MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

ANNALI DELLA SPERIMENTAZIONE AGRARIA

NUOVA SERIE

VOL. VII - NUM. 2

ROMA
1953



MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

ANNALI DELLA SPERIMENTAZIONE AGRARIA

NUOVA SERIE

VOL. VII - NUM. 2

ROMA

1953

SOMMARIO

I lavori sono disposti secondo la data di arrivo dei rispettivi dattiloscritti indipendentemente dalla materia in essi trattata.

NEL *SUPPLEMENTO*

LABORATORIO SPERIMENTALE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Gabriele Goidànich)
BOLOGNA

ANTONIO CANOVA

CASCOLA PARASSITARIA DELLE GEMME DI MELO

PREMESSA

Da alcuni anni veniva lamentata in un frutteto di Reggiolo (Reggio Emilia) una cascola delle gemme di piante di melo.

Tale malattia, dapprima in forma lieve, ha cominciato fin dal 1950 a dare serie preoccupazioni, sia per il danno economico della mancata produzione, sia per l'indebolimento crescente al quale venivano a sottostare le piante.

La medesima malattia apparve successivamente presente in diversi altri frutteti del comune di Reggiolo e circostanti ed anche in località di altre provincie (Mantova), come venne riscontrata mediante sopralluoghi. Nessun caso però era della gravità riscontrata nel frutteto di Reggiolo *; in provincia di Mantova, a S. Benedetto Po, comunque si trovarono piante in cui il danneggiamento era di notevole rilievo.

La malattia interessa diverse varietà: « Drappo dorato », « Paradiso », « Campanino », « Carla », « Annurca », « Red Stayman », « Commercio », « Durello », « Kind Davis », « Decio nostrana », « Permaine doré ».

Alcune di queste sembrano essere particolarmente recettive, come le prime due, in cui il fenomeno può interessare la totalità delle gemme a fiore e buona parte di quelle foglifere, mentre nelle altre si contiene in percentuali abbastanza modeste, circa il 20 %.

In questa Nota viene riferito sulle indagini compiute al fine di stabilire la causa della cascola — conosciuta di natura parassitaria — di illustrare le caratteristiche morfologiche ed apidemiologiche del suo agente patogeno, ed, infine, per impostare la lotta contro di esso.

* Questa cascola di gemme è considerata dai coltivatori, quando in forma lieve, un inconveniente non preoccupante, ed anzi in certi casi è ritenuta un processo utile poichè induce il diradamento delle gemme a fiore e dei frutticini, risparmiando così l'operazione manuale richiesta negli anni di carica.

Caratteri della malattia

La cascola delle gemme comincia nel mese di gennaio ed aumenta sempre più di intensità, mano a mano che si approssima la ripresa vegetativa delle piante.

Particolarmente soggette a cascola sono le gemme a frutto, sì che la produzione può subìre delle gravi o gravissime decurtazioni. Nel frutteto della tenuta « Ranaro », su cento piante di 20-25 anni della varietà « Drappo dorato », negli ultimi anni non si raccoglievano praticamente più frutti.

Il fallimento delle gemme a legno può essere del pari molto spinto e provocare una irregolare vegetazione dell'albero cui segue un arresto del suo sviluppo, riconoscibile negli individui che da più tempo sono soggetti alla cascola.

Tale malattia a cui, come si è detto, dapprima non fu rivolta particolare attenzione nella speranza che potesse rapidamente scomparire così come era comparsa, veniva dai frutticultori considerata come la conseguenza di una perturbazione dello stato fisiologico della pianta, connesso a sfavorevoli condizioni climatiche od edafiche. Si riteneva di trovarsi di fronte ad uno di quei casi noti anche nella nostra regione, ad esempio sul pesco, principalmente sulle varietà « Amsden » e « Mayflower », in cui l'eliminazione, nel periodo prefiorale delle gemme, per un processo di autotomia, è collegata all'influenza di blandi e remoti (fin dal periodo autunnale) sbalzi di temperatura, oppure (negli ambienti a clima temperato-caldo) dal troppo breve e incompleto riposo invernale.

Effettivamente, a giustificare tale errata interpretazione, sta il fatto, che macroscopicamente all'esterno dei rami e delle gemme stesse, sia prima che dopo il distacco, non si rileva alcunchè di particolare, se si fa eccezione di certe e non sempre manifeste placche feltrose, di un colore rosso-rugginoso, che possono facilmente venire scambiate per un ammasso accentuato dei comuni tricomi che rivestono normalmente le perule.

È solo dopo un esame microscopico che si riesce a mettere in evidenza la costituzione fungina di tali placche ed a riconoscere la natura parassitaria della malattia, cioè di un caso di infezione da *Fusarium lateritium* Nees var. *fructigenum* (Fr.) Wr.

Dalle osservazioni condotte negli ultimi due anni le manifestazioni più rilevanti della malattia sono:

a) macroscopiche

Le gemme invase dal micelio del parassita si possono distinguere solo ad uno stadio di infezione molto avanzata, cioè poco tempo prima della loro caduta. Mentre sfuggono ad un esame macroscopico i primi stadi dell'infezione che verosimilmente non altera la costituzione esterna della gemma, ne influisce sulla sua differenziazione.



FIG. 1. – Rametti con gemme terminali colpite: in quello di sinistra la gemma è ancora in posizione normale; in quello di destra è in via di distacco.

Esse si presentano, al momento in cui comincia a manifestarsi il fenomeno, fondamentalmente sotto due aspetti. Il prevalere dell'uno o dell'altro, sembra essere legato a particolari andamenti stagionali, che ancora non possiamo con certezza precisare, i quali influirebbero, esaltandole o deprimendole, sulle capacità patogene del parassita.

Alcune gemme si presentano di dimensioni inferiori, appuntite, parzialmente o totalmente sprovviste del primo rivestimento di perule; in quest'ultimi casi appaiono di un colore rossiccio, con la superficie tutta e abbondantemente rivestita di tricomi. Le perule più interne sono fra di loro fortemente serrate, in modo da formare un nucleo piuttosto compatto e rimangono nascoste da un feltro fungino spesso. Feltro che raramente, si può osservare in quelle gemme che ancora conservano tutte le perule, dai cui bordi erompe a mo' di cuscinetto.

In genere, in simili condizioni, si distinguono di primo acchito da quelle sane.

Altre gemme ammalate, sono di molta minore facilità di individuazione, hanno dimensioni normali, una consistenza più molle delle precedenti, le loro perule non presentano alcuna alterazione tranne che all'apice, ove vi è una zona di seccherecció frequentemente percorsa da striature e placche color arancione, del tipo di quelle sopra descritte, che erompono ai bordi.

Generalmente il cono vegetativo delle gemme di quest'ultimo tipo appare normale tanto che si può distinguere in esso gli abbozzi fiorali; talvolta però è necrotizzato non diversamente da quello che si è avuto nella gemma del primo tipo descritto.

Le gemme del primo tipo sono quelle che in maggior parte vanno soggette al fenomeno della cascola, cioè al distacco dell'organo completo dalla pianta, cascola che è preceduta dalla formazione, alla base delle gemme, di un piccolo solco che si approfondisce sempre più nei tessuti legnosi fino ad attraversarli tutti.

Le altre in cui il fungo sembra non abbia trovato le condizioni sufficienti per attaccarle al completo, riescono in qualche modo, all'inizio della ripresa vegetativa, a germogliare emettendo foglie e fiori. L'aspetto di tali fiori è però vario; alcuni di essi si presentano anormali, con un peduncolo grosso molto corto, non riescono a schiudere la corolla e ben presto si distaccano; altri invece sono nei primi momenti apparentemente normali sia vegetativamente che fisiologicamente, sembra anche portino ad un inizio la differenziazione del frutticino, più avanti sono però a loro volta raggiunti dal micelio e cadono.

Uguale sorte è riservata a quelle foglioline, che avevano accompagnato i bocci fiorali al dischiudersi della gemma; ed anzi generalmente li precedono nella morte.

Il danno che ne deriva da questa seconda cascola tardiva, può essere del pari molto spinto. Esso è motivo di disillusione fra i coltivatori, che per un certo periodo avevano ricevuto l'impressione di una sufficiente produzione residua dopo la cascola primaria.

La malattia, come si è detto, interessa con predilezione le gemme a fiore; tuttavia nelle varietà maggiormente colpite simile predilezione è molto meno apparente.

Essa è diffusa all'intera chioma, ma sembra meno grave nella parte più alta dell'albero; non è possibile ancora giudicare con sicurezza se ciò dipenda da un complesso di condizioni sfavorevoli alla virulenza del parassita, o di una minore recettività in tali organi dell'ospite.

A primavera inoltrata le piante, in cui la cascola si è ripetuta da più tempo e con maggiore intensità appaiono con intere branche quasi spoglie

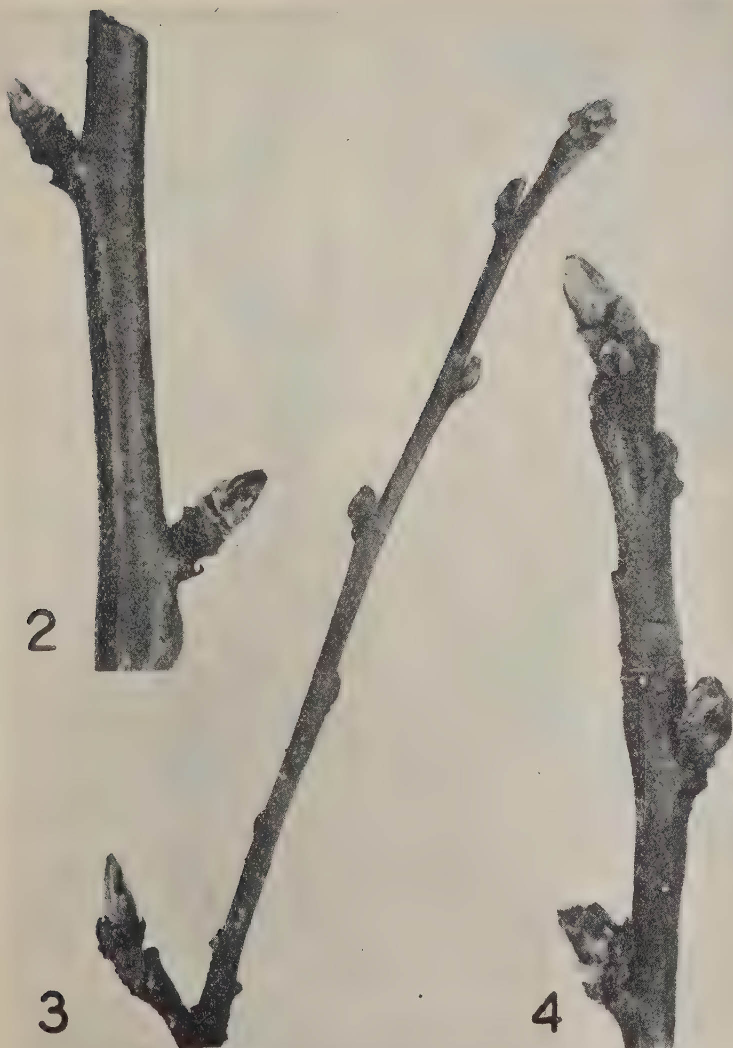


Fig. 2. – Ramo con due gemme uccise. Quella in alto ha completamente perduto il rivestimento esterno di perule e appare con la supeficie abbondantemente rivestita di tricomi.

Fig. 3. – Brindillo con tutte le gemme lungo l'asse disseccate. Quella in basso a sinistra, a frutto, è dell'anno precedente.

Fig. 4. – Rametto con la gemma terminale completamente uccisa; le due basali solo parzialmente. Si noti, nelle due ultime, un inizio di rigonfiamento.

di vegetazione. In un periodo più avanzato però riparano in parte a questo stato, con il germogliamento di gemme avventizie alla base di quelle già cadute o di quelle che, sebbene infette, sono ancora sulla pianta. Tale fenomeno si verifica molto di frequente nella gemma terminale dei brindilli o dei rami di prolungamento.

b) microscopiche

I tessuti delle perule e del cono vegetativo sono completamente permeati dalle ife fungine, il cui intreccio è più intenso in corrispondenza dei tessuti meristematici.

Le ife hanno un andamento intercellulare e determinano la formazione di ampie cavità in seguito allo scollamento delle pareti delle cellule medesime.

I tessuti appena raggiunti dal micelio conservano la loro costituzione normale; quindi si alterano nel colore e nella struttura, raggrinzendosi e trasformandosi in quell'ammasso secco e consistente quasi mummificato riconoscibile anche macroscopicamente.

Alla base delle gemme morte o mortificate si differenzia un meristema di separazione, in corrispondenza del quale avviene la disarticolazione della gemma stessa. Si ha insomma un fenomeno pressappoco analogo a quello che causa il distacco normale delle foglie. Con ciò la pianta, verosimilmente, non soltanto si libera degli organi colpiti, ma impedisce anche che da questi la malattia possa diffondersi nei tessuti del rametto fruttifero. Eventualità verosimile come è risultato da prove di inoculazione, con le quali si è visto che il micelio si diffonde rapidamente nei tessuti legnosi e liberiani di questi ultimi organi.

L'esame colturale conferma che in tutti i tessuti lesionati delle gemme esiste il micelio rilevato con l'indagine istologica. Lo stesso si trova eccezionalmente anche in cellule localizzate per qualche millimetro al disotto dello strato di separazione della gemma.

Il parassita

Si mette in evidenza così un micete che cresce facilmente sui comuni substrati di laboratorio (agar di Czapek, agar-malto), dove ha uno sviluppo non molto rapido e che produce colonie con un micelio aereo bianco, fioccoso, più o meno denso. Tali colonie, osservate nella parte inferiore,



Fig. 5. - Ramo fruttifero con le gemme morte. Quella in alto a sinistra è in via di distacco; quella a destra mostra le perule più esterne che stanno per cadere; mentre l'altra in basso è dell'anno precedente.

Fig. - 6. Porzione di ramo con gemme disseccate. Si noti in quella in basso l'aspetto appuntito e la mancanza del primo rivestimento di perule; quella in alto l'aspetto apparentemente normale.

Fig. 7. - Parte terminale di brindillo con gemma apicale e le due lungo l'asse uccise e ricaccio di gemma avventizia.

Fig. 8. - Rametto con gemma terminale colpita dal parassita, con alla base un ricaccio da gemma avventizia; più in basso sono sbocciati due fiori da una gemma parzialmente attaccata dal fungo.

presentano una debole colorazione rosa, che si accentua con l'invecchiamento, ed un alone più chiaro alla periferia.

Dopo all'incirca una trentina di giorni si differenziano, in corrispondenza di addensamenti del micelio aereo, delle sorta di cuscinetti con una consistenza quasi cerosa ed una colorazione rosa intensa.

Il micelio di questo fungo presenta, in coltura, due tipi fondamentali di ife: quelle giovani sono sottili, ialine, di calibro uniforme (μ 2,5-3), a contenuto protoplasmatico omogeneo; ed altre di diametro sui μ 4,5-6, che posseggono un contenuto ricco di inclusioni oleose rotondeggianti. Queste ife più vecchie portano lungo il loro asse, come all'estremità, numerose clamidospore ricche di goccioline di grasso ed inoltre frequentemente si riuniscono strettamente in due o tre a formare delle speci di cordoni.

Le fruttificazioni, che costituiscono quelle masserelle rosa cerose sopra descritte, si presentano sotto forma di elementi conidiogeni riuniti in sporodochi. Tali elementi rassomigliano a candelabri, presentano una ramificazione del tipo dicotomica, e portano in cima un conidio.

I conidi hanno una forma falcata, con setti ben evidenti generalmente in numero di tre o quattro, e una dimensione più frequentemente intorno a μ 37-3,7, che tuttavia può variare da 29 a 40 μ.

Il microrganismo di cui sono stati delineati gli aspetti colturali e morfologici è identificabile come *Fusarium lateritium* Nees var. *fructigenum* (Fr.) Wr. (= *F. fructigenum* Fr.; = *F. gemmiperda* Aderhold; = *F. Blackmanni* Brown et Horne).

Si tratta di un parassita noto già da molto tempo nella patologia delle piante fruttifere, sulle quali è stato rinvenuto responsabile appunto di cascole gemmarie ed anche di marciume dei frutti.

Il primo a parlare di *Fusarium* come agente di disseccamento di gemme fu S. P. Wiltshire, nel 1914. Successivamente tale fungo è stato segnalato presente nella eziologia di cascola gemmaria da E. S. Salmon e H. Wormald (1915) nel melo; da R. Aderhold in Germania sul ciliegio (1901); da Roberts nel 1920 in Georgia nel pesco e, più di recente, in Inghilterra e in Svizzera sul melo.

Aderhold e Roberts ne hanno dimostrato sperimentalmente la patogenicità; diversi autori hanno segnalato che questa risulta notevolmente influenzata dalle condizioni ambientali, specialmente igrometriche; come ci ha confermato — con comunicazione privata — il dott. M. H. Moore della Stazione di East Malling (Inghilterra).

Da quanto ci risulta la presenza del fungo, almeno come agente di cascola di gemme dei fruttiferi, non era ancora stata riscontrata in Italia.

Epidemiologia

La presenza del *F. lateritium* var. *fructigenum* si comincia già a riscontrare negli abbozzi delle nuove gemme in formazione a partire dal mese di maggio. Ciò particolarmente in quelle poste in vicinanza delle altre gemme infettatesi nella precedente stagione, rimaste attaccate alla pianta.

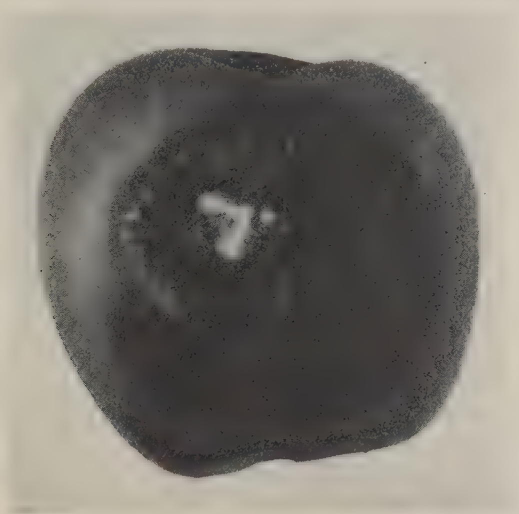


Fig. 9. – Frutto dopo una ventina di giorni circa dalla inoculazione con *Fusarium*.

Dalle osservazioni compiute nel corso delle presenti ricerche: sia mediante l'esame colturale, sia con sezioni fatte in epoche diverse e su diversi punti delle perule, sembra del tutto probabile che l'attacco del parassita avvenga dalla parte apicale; dove la funzione protettiva dell'involucro di perule e dei tricomi non è completamente efficiente, specialmente nel periodo di differenziazione degli abbozzi gemmari.

Stabilitasi così l'infezione, fra le prime perule, il micelio raggiunge più o meno rapidamente gli elementi meristematici centrali. Giunto a questo punto il fungo sembra attraversare un lungo periodo, che va fino all'inizio della stagione autunno-invernale, in uno stadio di vita latente, senza cioè disturbare il processo formativo dell'organo che lo ospita. Ciò appare dal fatto, come abbiamo precedentemente ricordato, che solo in quel periodo

si può cominciare a notare, esaminando minutamente la gemma, qualche porzione di perula necrotizzata e vegetazioni miceliari nella parte apicale.

Nelle gemme foglifere, le cose verosimilmente procedono in un modo un po' diverso; cioè il parassita non sembra sempre trovi l'optimum di vita, o quello stimolo che accentua la sua virulenza, tanto da portare alla morte l'intero organo. Infatti a primavera alcune di esse, pur risultando all'esame colturale infette dal *Fusarium*, emettono la normale rosetta di foglie che compiono la loro naturale funzione assimilatrice, portando al completo sviluppo la nuova gemma.

La conservazione della malattia è da ritenere sia affidata nella maggior parte alla fase vegetativa del parassita, lo stesso dicasi per la diffusione dell'infezione sulle singole piante.

Il micelio facilmente può passare a primavera dalle gemme ammalate a quelle in via di formazione, poste molto vicine come è nelle lamburde; oppure è sempre possibile che elementi di esso restino a contatto della superficie di distacco della gemma, infettino il germoglio avventizio formatosi immediatamente al di sotto. Inoltre, come abbiamo detto sopra, esso può essere contenuto in gemme che a primavera riescono a germogliare svolgendo il loro normale ciclo vegetativo, culminando con la formazione di uno o di altri organi che inevitabilmente non possono essere che infetti.

Avvenuta in qualche modo l'infezione sui nuovi abbozzi gemmari, essa procederebbe di pari passo con il nuovo germoglio infettando tutte le gemme in formazione, come capita di riscontrare frequentemente nei brindilli delle piante maggiormente colpite.

Alla diffusione invece del *Fusarium* da pianta a pianta o in frutteti distanti, provvedono invece gli elementi della fruttificazione che si differenziano sulle gemme ancora sulla pianta o cadute sul terreno. Al loro trasporto possono provvedere gli agenti atmosferici o qualche organismo animale, insetti od uccelli. L'uomo stesso può funzionare da vettore della malattia, nel caso utilizzi per la propagazione rami prelevati da piante infette.

Nulla possiamo dire sulla importanza, da questo punto di vista, dei germi prodotti sui frutti dato che fino al momento attuale non siamo riusciti a riscontrare casi di attacco su simili organi *.

* L'attacco su mele l'abbiamo, invece, ottenuto in laboratorio, mediante l'inoculazione di pezzi di colonia, prelevati da colture pure del *Fusarium*. L'alterazione prodotta consiste in un marciume molle non dissimile da quello causato da molti altri agenti di disfacimento microbiologico dei frutti. Non sembra che il fungo sia in grado di attraversare l'epicarpio indenne; almeno negative sono rimaste le prove in questo senso da noi eseguite.

Le esperienze che abbiamo in corso e le osservazioni che sarà possibile fare in futuro, ci permetteranno di dire in seguito una parola più precisa circa il comportamento del fungo e l'influenza su di esso delle condizioni ambientali.



FIG. 10. – Microfotografia di conidi di *F. lateritium* var. *fructigenum*.

PROVE DI LOTTA

Date le particolarità biologiche e epidemiologiche del suo agente — la capacità di restare nella gemma senza lederla completamente e quindi di essere continuamente protetto da essa — è comprensibile come questo tipo di malattia sia oltremodo difficile a combattersi.

Ciò è stato confermato dall'esito finora ottenuto con le nostre prove sperimentali di lotta, consisténti con l'irrorazione ad intervalli di quindici giorni di poltiglia bordolese all'1 %, a cominciare dai primi di maggio. I controlli fatti nel corso dell'estate e per tutto il corso dell'autunno hanno rilevato che l'infezione è ancora presente nelle gemme dei rametti che erano stati ripetutamente coperti dall'antiparassitario.

Per avere un sicuro giudizio dell'efficiacia di questi interventi è naturalmente necessario attendere la prossima primavera, ma — come si è detto — le previsioni non sono certo brillanti.

Pertanto in base alle attuali conoscenze acquisite sulla natura e sul comportamento di questa infezione, l'unico suggerimento che riteniamo sia da darsi al fine di ridurre la sua dannosità, è quello di una accurata ripulitura della chioma allo scopo di allontanare tutte le parti raggiunte dall'infezione. Ciò nelle piante che siano solo parzialmente colpite. Nelle altre in cui l'infezione è generalizzata, non vediamo per il momento altra possibilità che il rinnovamento della chioma con varietà di melo che siano refrattarie all'attacco del *Fusarium*; dote che fortunatamente sembra sia posseduta dalla maggiore parte delle varietà di melo oggigiorno coltivate.

RIASSUNTO

Si descrive una malattia osservata nel 1950 per la prima volta in Italia.

Essa consiste in una cascola delle gemme di melo che ha inizio nel mese di gennaio ed aumenta man mano di intensità fino alla ripresa vegetativa. Particolarmente soggette al fenomeno sono le gemme a fiore.

L'agente responsabile della malattia è il *Fusarium lateritium* Nees var. *fructigenum* (Fr.) Wr.

Gli organi colpiti possono distinguersi solo poco tempo prima della loro caduta, mentre sfuggono i primi stadi dell'infezione che si verifica alquanto prima, cioè nei mesi primaverili.

L'alterazione produce danni particolarmente sensibili su alcune varietà : « Drappo dorato », « Paradiso ».

Prove di lotta con irrorazioni di poltiglia bordolese non hanno dato risultati soddisfacenti.

SUMMARY

A PARASITIC BUD-ROT OF APPLE TREE

by ANTONIO CANOVA

A disease observed in the year 1950, for the first time in Italy is here described.

It consists in a bud-rot of apple tree which begins in winter months and increases gradually until the vegetative revival. Especially the flower buds are injured.

The rot is caused by *Fusarium lateritium* Nees var. *fructigenum* (Fr.) Wr.

It is possible to recognise the affected organs only a short time before their dropping while the first stages of the infection which takes place a little earlier, during the spring months generally escape notice.

The disease produces remarkable damages on some varieties: *i. e.* 'Drappo dorato', 'Paradiso'.

Experiments of control with sprays of Bordeaux mixture have not given satisfactory results.

BIBLIOGRAFIA

(1) Aderhold, R. Ein der *Monilia*-Krankheit ähnlicher Krankheitsfall an einem Sauerkirschenbaume. *Zeitschr. f. Pflanzenkrankh.*, 1901, XI, 65-73.

(2) Brown, W. Studies on the genus *Fusarium*. VI. *Annals of Botany*, 1928, XLII, 285-304.

(3) Cocchi, F. Cascola delle gemme a fiore nei peschi delle varietà « Amsden » e « Mayflower ». *Boll. Staz. Pat. Veg. Roma*, 1933, XIII, 190-202.

(4) Fischer, H. Über einige Krankheiten an Obstbäumen. *Schw. Zeit. f. Obst- und Weinbau*, 1946, XXVI, 496.

(5) Kidd, M. N., and Beaumont, A. Apple rot fungi in storage. *Trans. Brit. Myc. Soc.*, 1924, X, 98-118.

(6) Roberts, W. J. A bud-rot of the peach caused by a species of *Fusarium*. *Journ. Agr. Res.*, 1923, XXVI, 507-512.

(7) Wiltshire, S. P. *Annual Report of Long Ashton Agric. and Hort. Station*, 1914, 141.

(8) Wollenweber, H. W. *Fusarium* Monographie. *Zeitschr. f. Parasit.*, Berlin, J. Springer, 1931.

(9) Wollenweber, H. W. Fungi imperfecti. In Sorauer, P. Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Berlin, Parey, 1932, Bd. III, 759-761.

(10) Wormald, H. Diseases of fruit and hops. London, C. Lockwood and Son, Ltd., 1946, 88.

Ricevuto il 3 giugno 1952.

ISTITUTO DI CHIMICA AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ
(Direttore: Carlo Ferrari)
BOLOGNA

Carlo Ferrari e Pietro Lugo

SULLA MICRO-DETERMINAZIONE FOTOMETRICA DEGLI ACIDI FOSFORICO E SILICICO PRESENTI CONTEMPORANEAMENTE IN SOLUZIONE *

Tanto nel campo biologico che in quello pedologico si presenta spesso il problema di dosare piccolissime quantità di acido fosforico in presenza di silice solubile e può anche essere necessario dosare quest'ultima in presenza di acido fosforico.

Come è ben noto, i dosamenti dei due acidi, uno in assenza dell'altro, vengono eseguiti molto convenientemente mediante la così detta ceruleo-molibdimetria, che si fonda sulla riduzione degli acidi fosfo- e silico-molibdico nei corrispondenti bleu di molibdeno, fosforato e siliciato: uno di noi si occupa di queste reazioni da parecchi anni (1) e recentemente ha potuto portare dei chiarimenti tali alla conoscenza del bleu di molibdeno fosforato (6) da far uscire questa reazione dall'empirismo che finora l'aveva caratterizzata consentendo di conseguire un grado di esattezza degno di nota nel dosamento fotometrico dell'acido fosforico. Analogo studio è già stato eseguito sul bleu di molibdeno siliciato e formerà oggetto di una prossima nota.

Il problema del dosamento dell'acido fosforico in presenza di silice solubile può dirsi già risolto nel caso in cui piccolissime quantità di P_2O_5 (inferiori al milligrammo) siano accompagnate da quantità di SiO_2 solubile dello stesso ordine di grandezza (frazioni di milligrammo o pochissimi milligrammi): basta allora operare nelle condizioni descritte in altra nota (3), impedendo la formazione dell'acido silico-molibdico mediante preventiva acidificazione con una quantità conveniente di acido solforico: come è stato dimostrato (5), questo acido agisce da inibente della formazione dell'acido silico-molibdico perchè impegna l'acido molibdico del reattivo rendendolo indisponibile alla silice e lasciandolo invece in condizioni di reagire con l'acido fosforico per dare il complesso fosfo-molibdico,

* Lavoro eseguito con una sovvenzione del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste.

per cui la successiva aggiunta del riducente può provocare la formazione del solo bleu di molibdeno fosforato.

Più recentemente è stato accennato (4) alla possibilità di determinare la formazione tanto del bleu di molibdeno fosforato che di quello siliciato (operando nelle condizioni descritte per il dosamento della silice solubile da sola) e, sottraendo dall'estinzione di questo bleu « globale » l'estinzione del bleu di molibdeno fosforato determinata, a parte, nel modo anzidetto, di ricavare la quota di estinzione che compete al bleu di molibdeno siliciato, realizzando in tal modo un dosamento « indiretto » di piccolissime quantità di silice solubile in presenza di quantità, pure piccolissime, di acido fosforico.

I procedimenti ora ricordati appaiono però insufficienti quando la soluzione in esame contenga accanto a piccolissime quantità di silice solubile quantità relativamente grandi di acido fosforico ovvero quando quantità piccolissime di acido fosforico siano accompagnate da quantità relativamente grandi di silice solubile, caso piuttosto frequente, per esempio in pedologia.

Per evitare, nei casi considerati, le interferenze reciproche che inevitabilmente si produrrebbero qualora venissero applicate le tecniche più sopra ricordate, occorreva trovare nuove condizioni di lavoro che permettessero di eliminare rispettivamente le influenze esercitate da quantità sensibili di acido fosforico e di silice solubile.

I risultati del citato studio sul bleu di molibdeno fosforato e alcune osservazioni sul comportamento degli etero-poli-acidi considerati (acido fosfo- e silico-molibdico) in soluzione acquosa (5-6) hanno aperto la strada alla soluzione integrale del problema oggetto della presente nota: si è potuto infatti realizzare il dosamento « diretto » della silice solubile in presenza di quantità relativamente grandi di acido fosforico nonchè il dosamento « indiretto » dell'acido fosforico in presenza di quantità relativamente enormi di silice solubile.

Il dosamento « diretto » della silice solubile riveste un notevole interesse anche perchè consente di controllare l'esattezza dei risultati: infatti la somma delle estinzioni dei due bleu (fosforato e siliciato) determinate separatamente per via « diretta » deve evidentemente essere uguale all'estinzione del bleu « globale ».

Nella nota citata (3) è stata posta in rilievo una proprietà che differenzia nettamente l'acido fosforico dall'acido silicico: mentre il primo può dare origine al complesso fosfo-molibdico anche in presenza di quantità di acido solforico relativamente elevate (come quella che è necessaria

per impedire la formazione del così detto « bleu di molibdeno puro »), il secondo in queste condizioni non può assolutamente formare l'acido silico-molibdico, almeno fino a quando la quantità di silice solubile sia dell'ordine di pochi milligrammi. Su tale comportamento si fonda, come si è visto, la possibilità di dosare l'acido fosforico in presenza di piccole quantità di silice solubile, per via ceruleo-molibdimetrica. Successivamente è stato dimostrato (5-6) che la silice solubile può dare origine al complesso silico-molibdico in modo quantitativo solo quando il rapporto tra le quantità di acido solforico e di acido molibdico sia contenuto entro limiti determinati: per la quantità prescritta di molibdato d'ammonio, la quantità di acido solforico ammessa è molto inferiore a quella che si può impiegare nel caso dell'acido fosforico ed è insufficiente ad impedire la comparsa del bleu di molibdeno puro quando venga aggiunto un riducente. Si è pure constatato che gli acidi fosfo- e silico-molibdico, una volta formati in soluzione, hanno invece un comportamento del tutto opposto a quello sopra detto nei confronti della resistenza all'azione demolitrice esercitata da un'ulteriore aggiunta di acido solforico. È stato infatti dimostrato che è possibile demolire quantitativamente l'acido fosfo-molibdico aggiungendo quantità di acido solforico che non hanno alcun effetto demolitore sull'acido silico-molibdico. L'unico effetto esercitato su quest'ultimo dalla acidificazione è un aumento della velocità di trasformazione della forma gialla di detto acido nella forma incolora, fenomeno ampiamente studiato nella citata nota (5): di qui e dallo studio approfondito del bleu di molibdeno siliciato scaturisce la necessità di operare la riduzione dell'acido silico-molibdico a bleu di molibdeno siliciato mediante un riducente che sia capace di iniziare la riduzione anche a temperatura ambiente: è stato scelto l'acido ascorbico, il quale, agendo sulla sola forma gialla dell'acido silico-molibdico, dà origine ad un bleu con curva definita di colore, analogamente a quanto si è visto a proposito del bleu di molibdeno fosforato (6).

Il diverso comportamento dei due etero-poli-acidi nonchè dei loro prodotti di riduzione bleu nei confronti dell'acidità è servito di base nell'elaborazione del dosamento « diretto » della silice solubile anche in presenza di piccole quantità di acido fosforico (1-2 milligrammi). Il procedimento è semplicissimo: dopo aver operato nelle condizioni descritte per ottenere quantitativamente l'acido silico-molibdico (cioè in presenza di piccole quantità di acido solforico, intorno a pH 1,5) basta aggiungere, prima del riducente, la quantità di acido solforico che è capace di demolire, quantitativamente e istantaneamente, l'acido fosfo-molibdico. Come si è detto, questa quantità non demolisce affatto l'acido silico-molibdico nè ha praticamente effetto sul suo prodotto di riduzione, il bleu di molibdeno siliciato.

Quando però la quantità di silice solubile sia straordinariamente elevata rispetto all'acido fosforico, il dosamento « diretto » di quest'ultimo può risultare errato per eccesso in quanto una parte della silice può reagire, specie a caldo, con l'acido molibdico per formare acido silico-molibdico, che viene subito ridotto al corrispondente bleu per opera del riducente presente nella soluzione.

Questo inconveniente non consentirebbe di effettuare il dosamento « diretto » dell'acido fosforico nei molti casi in cui piccolissime quantità di questo acido sono accompagnate da quantità relativamente enormi di silice solubile, la quale può essere presente nel liquido in esame non solo naturalmente, ma vi può essere portata come impurezza dai reattivi che si sono usati per ottenere il campione: per esempio alcali caustici, carbonati o acetati alcalini, ecc.

Per ovviare a questo gravissimo inconveniente che compromette la possibilità di dosare direttamente l'acido fosforico in molti casi pratici, è stato elaborato un procedimento che consente di accertare in modo semplice e rapido se sia effettivamente occorsa una interferenza da parte della silice solubile e, in caso affermativo, di stabilire esattamente l'entità della interferenza stessa, in modo da poter correggere il risultato, realizzando in tal modo un dosamento « indiretto » dell'acido fosforico in presenza di forti quantità di silice solubile.

Anche questo procedimento si fonda sulla già descritta, netta differenza di resistenza dei due etero-poli-acidi di fronte alla azione dell'acido solforico: una volta ottenuto, per via « diretta », il bleu di molibdeno fosforato e lo si supponga inquinato di bleu siliciato, si dovrà anzitutto determinare l'estinzione della soluzione bleu: una parte aliquota di essa dovrà quindi venir ulteriormente acidificata con la quantità di acido solforico appropriata (che varia in dipendenza della quantità di molibdato presente nella parte aliquota usata) che è in grado di demolire completamente ed istantaneamente l'acido fosfo-molibdico (anche nella quantità corrispondente a mg 1-2 di P_2O_5): quest'ultimo viene ripristinato in soluzione, accanto all'eventuale acido silico-molibdico, mediante ossidazione con permanganato. Questo ossida anche l'eccesso di riducente, per cui è opportuno aggiungerne tanto da rendere la soluzione nettamente colorata in rosso-violaceo. Contrariamente all'acido fosfo-molibdico, l'acido silico-molibdico non è minimamente decomposto dalla quantità di acido solforico impiegata. È sufficiente aggiungere nuovo riducente e scaldare su bagnomaria per veder ricomparire la quota di bleu che compete al prodotto di riduzione dell'acido silico-molibdico stesso.

Sottraendo all'estinzione del bleu « globale » la estinzione di questa frazione (riferita al volume primitivo) si ottiene la estinzione che compete

al bleu di molibdeno fosforato e quindi si realizza il dosamento « indiretto » dell'acido fosforico.

Il procedimento ora descritto può servire, naturalmente, anche per dosare « direttamente » piccole quantità di silice solubile in presenza di piccole quantità di acido fosforico: in questo caso bisognerà operare nelle condizioni in cui si formano tanto l'acido fosfo- che il silico- molibdico (in presenza di piccole quantità di acido solforico, a pH intorno a 1,5) e, dopo aver provocato la formazione del bleu di molibdeno globale (fosforato + siliciato), misurarne l'estinzione e quindi operare su una parte aliquota del liquido bleu per determinare la distruzione dell'acido fosfomolibdico ripristinato mediante ossidazione con permanganato, in modo da ricavare direttamente la sola quota di estinzione che compete al bleu di molibdeno siliciato, come sopra detto.

Parte sperimentale

Riteniamo opportuno riportare anzi tutto la composizione dei reattivi che sono necessari:

1. — Reattivo molibdico: soluzione acquosa di molibdato d'ammonio, esente di acido fosforico e di silice, all'1,44 %. Ogni cc di questa soluzione contiene una quantità del sale corrispondente a circa mg 12 di MoO_3;
2. — soluzione di H_2SO_4 8 N, esente di arsenico;
3. — soluzione riducente: acido ascorbico al 2,5 % in acqua, preparata di recente;
4. — soluzione di $KMnO_4$ N/2-N/10.

Se la prova in bianco, per impurezze dei reattivi, non dà al fotometro il 100 % di trasparenza, è opportuno mettere nella vaschetta di confronto il liquido in bianco medesimo ovvero sottrarre l'estinzione corrispondente da tutte le estinzioni determinate usando i detti reattivi.

Tutte le esperienze riportate in questa nota sono state eseguite avendo presente la necessità, già rilevata (5), di impiegare i reattivi in misura sufficiente per produrre quantitativamente gli etero-poli-acidi anche nelle dosi massime corrispondenti a quantità di P_2O_5 e di SiO_2 di complessivi mg 1 circa. A questo scopo si sono usati 10 cc della soluzione acquosa di molibdato d'ammonio, cioè una quantità doppia di quella prescritta nelle citate note, impiegando poi i volumi di H_2SO_4 8 N indicati di volta in volta. Come riducente è stato usato l'acido ascorbico perchè questo, già a

temperatura ambiente, ha una rapidità d'azione sensibilmente maggiore di quella del solfato d'idrazina, che era stato consigliato nelle note citate.

Come strumento di misura è stato impiegato lo Spettrofotometro Universale di Coleman, modello 14, eseguendo le letture alla lunghezza d'onda di 650 mμ, in vaschetta di 1 cm di spessore. Le misure fotometriche hanno valore esclusivamente per lo strumento col quale sono state effettuate e non assoluto.

L'ordine di aggiunta dei reattivi e le quantità degli stessi nonchè i tempi prescritti debbono venir rigorosamente rispettati.

Per maggior chiarezza riportiamo nelle tabelle I e II i dati che si ottengono, rispettivamente con le quantità di P_2O_5 e di SiO_2 solubile indicate, seguendo le tecniche già descritte nelle note citate, cioè nel modo che è consigliabile seguire quando i due acidi debbano venir dosati separatamente l'uno dall'altro. Uniche varianti sono costituite dall'impiego di una quantità doppia di soluzione di molibdato e dall'aver usato come riducente l'acido ascorbico in luogo del solfato di idrazina.

L'uso di una quantità doppia di molibdato impone di impiegare quantità adeguatamente maggiori di H_2SO_4 8 N per inibire la formazione del bleu di molibdeno puro. Esse d'altra parte non devono superare un certo limite per non ostacolare la formazione dell'acido fosfo-molibdico in quanto il volume finale della soluzione è mantenuto a 100 cc: si è visto (3) che quando la quantità di molibdato corrisponde a 60 mg di MoO_3 i volumi di H_2SO_4 8 N possono essere fatti variare da 4 a 7 cc. Quando invece, come ora viene prescritto, si impieghino quantità di molibdato corrispondenti a 120 mg di MoO_3, occorre usare volumi di H_2SO_4 8 N compresi tra 8 e 10 cc. Si è scelto il volume di 9 cc come il più adatto.

È opportuno rilevare che queste relativamente grandi quantità di H_2SO_4 8 N impongono di operare il riscaldamento su bagno-maria ad acqua alla temperatura più alta possibile.

Tabella I

Curva concentrazione/estinzione specifica per la P_2O_5

Prova n.	Soluzione P_2O_5 mg 0,1/cc cc	H_2O cc	H_2SO_4 8 N cc	Reattivo molibdico cc	Soluzione riducente cc	Bagno-maria minuti	Trasparenza T %	Estinzione specifica $k = \frac{E}{l}$
1	1	70	9	10	2	30	74,1	0,130
2	2	70	9	10	2	30	54,6	0,263
3	3	70	9	10	2	30	41,0	0,387
4	4	70	9	10	2	30	29,7	0,527
5	5	70	9	10	2	30	22,3	0,652
6	6	70	9	10	2	30	16,4	0,785

Tabella II

Curva concentrazione/estinzione specifica per la SiO_2

Prova n.	Soluzione $Si O_2$ mg 0,1/cc cc	H_2O cc	Reattivo molibdico cc	H_2SO_4 8 N cc	Riposo minuti	H_2SO_4 8 N cc	Soluzione riducente cc	Bagno-maria minuti	Trasparenza T%	Estinzione specifica $k = \frac{E}{l}$
1	1	70	10	0,6	15	8,4	2	30	78,5	0,105
2	2	70	10	0,6	15	8,4	2	30	61,7	0,210
3	3	70	10	0,6	15	8,4	2	30	49,0	0,310
4	4	70	10	0,6	15	8,4	2	30	38,5	0,414
5	5	70	10	0,6	15	8,4	2	30	30,0	0,523
6	6	70	10	0,6	15	8,4	2	30	23,6	0,627

Dalle tabelle I e II si ricavano i valori dell'estinzione specifica (k) rispettivamente ottenuti con soluzioni pure di acido fosforico e di silice solubile: tali valori devono essere tenuti presenti per confrontarli con i valori dell'estinzione specifica che si ottiene effettuando il dosamento dei due acidi uno in presenza dell'altro, in modo « diretto » o « indiretto ».

* * *

Le norme di lavoro che si consiglia di seguire nei vari casi sono le seguenti:

a) Formazione contemporanea dei bleu fosforato e siliciato

La soluzione in esame, opportunamente diluita con acqua intorno a 60-70 cc in una bevuta da 250 cc, viene addizionata di 10 cc del reattivo molibdico e di 0,6 cc di H_2SO_4 8 N, in modo che il pH si porti intorno a 1,5. Dopo il necessario riposo di 10-15 minuti si aggiungono, agitando, cc 8,4 di H_2SO_4 8 N e cc 2 del riducente, poi si pone per 30 minuti su bagno-maria bollente. Dopo raffreddamento, si porta al volume di 100 cc e si esegue la misura fotometrica.

10 minuti sono sufficienti per la formazione dell'acido silico-molibdico quando la temperatura è intorno a 20° C. Quando essa è sensibilmente inferiore, è opportuno prolungare il riposo fino a 15 minuti.

Le prove riportate nella tabella III dimostrano che è effettivamente possibile ottenere la somma dei due bleu (quello fosforato e quello siliciato) con un grado di esattezza molto soddisfacente.

Tabella III

Formazione contemporanea dei bleu di molibdeno fosforato e siliciato

Prova n.	Soluzione P_2O_5 mg 0,1/cc cc	Soluzione SiO_2 mg 0,1/cc cc	H_2O cc	Reattivo molibdico cc	H_2SO_4 8 N cc	Riposo minuti	H_2SO_4 8 N cc	Soluzione riducente cc	Bagno-maria minuti	Trasparenza T %	Estinzione specifica k trov.	Estinzione specifica (dai k delle tabelle I e II) k calcol.	Differenza dal calcolato Δ k
1	1	1	60	10	0,6	15	8,4	2	30	59,0	0,229	0,235	−0,006
2	2	2	60	10	0,6	15	8,4	2	30	34,0	0,469	0,473	−0,004
3	3	3	60	10	0,6	15	8,4	2	30	19,8	0,703	0,697	+0,006
4	4	4	60	10	0,6	15	8,4	2	30	11,4	0,943	0,941	+0,002
5	5	5	60	10	0,6	15	8,4	2	30	6,6	1,181	1,175	+0,006

b) Dosamento «diretto» dell'acido fosforico in presenza di piccole quantità di silice solubile

La soluzione, opportunamente diluita con acqua intorno a 60-70 cc in una bevuta da 250 cc, viene addizionata di 9 cc di H_2SO_4 8 N, di 10 cc del reattivo molibdico, di 2 cc del riducente — agitando accuratamente ad ogni aggiunta — e si pone per 30 minuti su bagno-maria bollente. Dopo raffreddamento, si porta al volume di 100 cc e si esegue la misura fotometrica (vedi tabella IV).

c) Dosamento «diretto» della silice solubile in presenza di piccole quantità di acido fosforico

La soluzione, opportunamente diluita con acqua intorno a 50-60 cc in una bevuta da 250 cc, viene addizionata di 10 cc del reattivo molibdico e di 0,6 cc di H_2SO_4 8 N, in modo che il pH si porti intorno a 1,5. Dopo riposo di 10-15 minuti si aggiungono — agitando accuratamente — cc 23,4 di H_2SO_4 8 N, cc 2 del riducente e si pone su bagno-maria bollente per 30 minuti. Dopo raffreddamento, si porta al volume di 100 cc e si esegue la misura fotometrica.

Il volume di 24 cc complessivi di H_2SO_4 8 N, sopra prescritto, assicura la istantanea e totale demolizione dell'acido fosfo-molibdico — anche in dosi massime corrispondenti a 1-2 mg di P_2O_5 * — e non esercita

---

* Quantità maggiori di P_2O_5 ostacolerebbero fino ad inibirla, la formazione dell'acido silico-molibdico perchè, come si è visto, l'acido molibdico ha maggior tendenza a legarsi all'acido fosforico che all'acido silicico.

TABELLA IV

Dosamento «diretto» dell'acido fosforico in presenza di piccole quantità di silice solubile

Prova	Soluzione P_2O_5 mg 0,1/cc	Soluzione SiO_2 mg 0,1/cc	H_2O	H_2SO_4 8 N	Reattivo molibdico	Soluz. riduc.	Bagno-maria	Trasparenza	Estinzione specifica	Estinzione specifica (tabella I)	Differenza dal calcolato
n.	cc	cc	cc	cc	cc	cc	minuti	T %	k trov.	k calcol.	Δ k
1	1	1	60	9	10	2	30	74,8	0,126	0,130	— 0,004
2	2	2	60	9	10	2	30	55,4	0,257	0,263	— 0,006
3	3	3	60	9	10	2	30	41,0	0,387	0,387	0,000
4	4	4	60	9	10	2	30	29,9	0,524	0,527	— 0,003
5	5	5	60	9	10	2	30	22,3	0,652	0,652	0,000
6	6	6	60	9	10	2	30	16,6	0,780	0,785	— 0,005
7	1	10	50	9	10	2	30	74,1	0,130	0,130	0,000
8	2	10	50	9	10	2	30	55,4	0,257	0,263	— 0,006
9	3	10	50	9	10	2	30	41,0	0,387	0,387	0,000
10	4	10	50	9	10	2	30	30,2	0,520	0,527	— 0,007
11	5	10	50	9	10	2	30	22,5	0,648	0,652	— 0,004
12	6	10	50	9	10	2	30	16,7	0,777	0,785	— 0,008

TABELLA V

Dosamento «diretto» della SiO_2 solubile in presenza di piccole quantità di acido fosforico

Prova	Soluzione SiO_2 mg 0,1/cc	Soluzione P_2O_5 mg 0,1/cc	H_2O	Reattivo molibdico	H_2SO_4 8 N	Riposo	H_2SO_4 8 N	Soluzione riducente	Bagno-maria	Trasparenza	Estinzione specifica	Estinzione specifica (tabella II)	Differenza dal calcolato
n.	cc	cc	cc	cc	cc	minuti	cc	cc	minuti	T %	k trov.	k calcol.	Δ k
1	1	1	50	10	0,6	15	23,4	2	30	79,0	0,102	0,105	— 0,003
2	2	2	50	10	0,6	15	23,4	2	30	62,5	0,205	0,210	— 0,005
3	3	3	50	10	0,6	15	23,4	2	30	49,0	0,310	0,310	0,000
4	4	4	50	10	0,6	15	23,4	2	30	38,6	0,413	0,414	— 0,001
5	5	5	50	10	0,6	15	23,4	2	30	30,2	0,520	0,523	— 0,003
6	6	6	50	10	0,6	15	23,4	2	30	23,6	0,627	0,627	0,000
7	1	11	50	10	0,6	15	23,4	2	30	78,5	0,105	0,105	0,000
8	2	10	50	10	0,6	15	23,4	2	30	61,5	0,211	0,210	+ 0,001
9	3	9	50	10	0,6	15	23,4	2	30	48,3	0,316	0,310	+ 0,006
10	4	8	50	10	0,6	15	23,4	2	30	38,2	0,418	0,414	+ 0,004
11	5	7	50	10	0,6	15	23,4	2	30	30,4	0,517	0,523	— 0,006

invece alcuna azione decomponente nè sull'acido silico-molibdico nè sul bleu di molibdeno siliciato, quando si impieghino 10 cc del reattivo molibdico.

È opportuno ricordare (6) che sono invece sufficienti 16-17 cc di H_2SO_4 8 N quando si impieghino 5 cc del reattivo molibdico.

* * *

La interferenza che quantità relativamente enormi di silice solubile possono esercitare sul dosamento « diretto » dell'acido fosforico eseguito come è descritto in *b*) è dimostrata dai risultati esposti nella tabella VI (in assenza di acido fosforico) e nella tabella VII (in presenza di piccole quantità di acido fosforico).

Tabella VI

Interferenza di forti quantità di silice solubile nelle condizioni prescritte per il dosamento «diretto» dell'acido fosforico, in assenza di quest'ultimo

Prova n.	Soluzione Si O_2 mg 1/cc cc	H_2O cc	H_2SO_4 8 N cc	Reattivo molibdico cc	Soluzione riducente cc	Bagno-maria minuti	Trasparenza T %	Estinzione specifica k
1	5	60	9	10	2	30	90,0	0,046
2	10	55	9	10	2	30	86,5	0,063
3	15	50	9	10	2	30	84,0	0,076
4	20	45	9	10	2	30	82,3	0,084
5	30	35	9	10	2	30	74,0	0,131
6	40	25	9	10	2	30	69,5	0,158
7	50	15	9	10	2	30	67,1	0,174
8	50	—	24	10	2	30	100,0	0,000

L'esame dei risultati della tabella VI dimostra chiaramente che, in assenza di P_2O_5, la quantità di H_2SO_4 8 N che viene generalmente impiegata per inibire la formazione dell'acido silico-molibdico non è affatto sufficiente quando la quantità di silice solubile presente in soluzione sia di parecchi milligrammi: è evidente che una parte, per quanto piccola, della silice solubile riesce a produrre il bleu di molibdeno siliciato anche in queste condizioni di acidità.

D'altra parte è qui opportuno ricordare che non è consigliabile aumentare la quantità iniziale di H_2SO_4 8 N oltre i 9 cc perchè si potrebbe avere un ostacolo alla formazione dell'acido fosfo-molibdico.

Tabella VII

Interferenza di forti quantità di silice solubile nel dosamento «diretto» dell'acido fosforico

Prova n.	Soluzione P_2O_5 mg 0,1 cc cc	Soluzione SiO_2 mg 1,cc cc	H_2O cc	H_2SO_4 8 N cc	Reattivo molibdico cc	Soluzione riducente cc	Bagno-maria min.	Trasparenza T %	Estinzione specifica k trovato	Estinzione specifica (tabella 1) k calcol.	Differenza dal calcolato Δ k
1	2	—	70	9	10	2	30	54,6	0,263	0,263	0,000
2	2	5	65	9	10	2	30	52,4	0,281	0,263	+ 0,018
3	2	10	60	9	10	2	30	50,5	0,297	0,263	+ 0,034
4	2	20	50	9	10	2	30	49,8	0,303	0,263	+ 0,040
5	2	30	40	9	10	2	30	48,5	0,314	0,263	+ 0,051
6	2	40	30	9	10	2	30	47,6	0,322	0,263	+ 0,059
7	2	50	20	9	10	2	30	47,0	0,328	0,263	+ 0,065

Dunque anche in presenza di piccole quantità di acido fosforico, l'interferenza della silice solubile è ancora sensibile, per quanto minore come entità delle corrispondenti prove eseguite in assenza di P_2O_5.

d) Dosamento «indiretto» dell'acido fosforico in presenza di quantità relativamente enormi di silice solubile, attraverso la determinazione della quota di bleu di molibdeno siliciato che ha potuto formarsi nelle condizioni descritte in *b*)

Si prelevano 50 cc dei liquidi bleu di cui è già stata determinata l'estinzione corrispondente alla somma dei bleu fosforato e siliciato (vedi tabella VII), si addizionano di 12,5 cc di H_2SO_4 8 N e si aggiunge, agitando, la soluzione di $KMnO_4$ fino a colorazione decisamente rosso-violacea. Immediatamente si aggiungono 2 cc di soluzione riducente e si pone per 15-30 minuti su bagno-maria bollente. Dopo raffreddamento si porta al volume di 100 cc e si esegue la misura fotometrica.

L'estinzione letta in questo caso va naturalmente moltiplicata per due per ottenere l'estinzione relativa alla quantità totale di silice solubile che ha interferito: infatti si è operato su un volume di 50 cc dei 100 originali.

La quantità di H_2SO_4 8 N è stata ridotta a 17 cc complessivi perchè nei 50 cc di soluzione bleu è contenuta una quantità di molibdato d'ammonio corrispondente a 5 cc del reattivo molibdico, anzichè a 10 cc.

TABELLA VIII

Dosamento «indiretto» dell'acido fosforico dai liquidi bleu inquinati di bleu di molibdeno siliciato di cui alla tabella VII

Prova n.	Liquido bleu cc	H_2SO_4 8 N cc	K Mn O_4 cc	Soluzione riducente cc	Bagno-maria min.	Trasparenza T %	Estinzione specifica k trov.	Estinzione specifica trovata riferita a 100 cc k_1	Estinzione specifica trovata (v. tabella VII) k_2	k_2-k_1	Estinzione specifica (tabella I) k calcol.	Differenza dal calcolato Δ k
1	50	12,5	q. b.	2	30	100,0	0,000	0,000	0,263	0,263	0,263	0,000
2	50	12,5	q. b.	2	30	98,0	0,009	0,018	0,281	0,263	0,263	0,000
3	50	12,5	q. b.	2	30	96,5	0,016	0,032	0,297	0,265	0,263	+ 0,002
4	50	12,5	q. b.	2	30	95,7	0,019	0,038	0,303	0,265	0,263	+ 0,002
5	50	12,5	q. b.	2	30	94,1	0,026	0,052	0,314	0,262	0,263	— 0,001
6	50	12,5	q. b.	2	30	93,8	0,028	0,056	0,322	0,266	0,263	+ 0,003
7	50	12,5	q. b.	2	30	93,0	0,032	0,064	0,328	0,264	0,263	+ 0,001

e) Dosamento «diretto» di piccole quantità di silice in presenza di piccole quantità di acido fosforico operando su una parte aliquota dei liquidi bleu ottenuti nel modo descritto in *a*)

Si prelevano 50 cc dei liquidi bleu di cui alla tabella III, si addizionano 12,5 cc di H_2SO_4 8 N e si aggiunge, agitando, la soluzione di permanganato fino a colorazione decisamente rosso-violacea. Si aggiungono immediatamente 2 cc di soluzione riducente e si pone per 15-30 minuti

TABELLA IX

Dosamento «diretto» di piccole quantità di silice solubile in presenza di piccole quantità di acido fosforico operando su una parte aliquota dei liquidi ottenuti come in tabella III (somma dei bleu di molibdeno fosforato e siliciato)

Prova n.	Liquido bleu cc	H_2SO_4 8N cc	$KMnO_4$ cc	Soluzione riducente cc	Bagno-maria minuti	Trasparenza T %	Estinzione specifica trov. k trov.	Estinzione specifica trovata × 2 k	Estinzione specifica calcolata (tabella II) k calcol.	Differenza dal calcolato Δ k
1	50	12,5	q. b.	2	30	89,0	0,051	0,102	0,105	— 0,003
2	50	12,5	q. b.	2	30	79,0	0,102	0,204	0,210	— 0,006
3	50	12,5	q. b.	2	30	70,0	0,155	0,310	0,310	0,000
4	50	12,5	q. b.	2	30	62,0	0,208	0,416	0,414	+ 0,002
5	50	12,5	q. b.	2	30	54,5	0,264	0,528	0,523	+ 0,005

su bagno-maria bollente. Dopo raffreddamento si porta al volume di 100 cc e si esegue la misura fotometrica.

Anche in questo caso occorre naturalmente riferire il risultato al volume originale.

* * *

Infine nella tabella X abbiamo raccolto i risultati di una serie di prove riassuntive:

la prova 1 si riferisce al dosamento « diretto », dell'acido fosforico, in soluzione esente di silice solubile, con la tecnica descritta in altra nota (2), con le sole varianti di usare come riducente l'acido ascorbico in luogo del solfato d'idrazina e una quantità doppia del reattivo molibdico;

la prova 2 dimostra che l'acido fosfo-molibdico ottenuto per ossidazione del bleu di molibdeno fosforato mediante permanganato è istantaneamente demolito da una quantità conveniente di acido solforico, aggiunta prima dell'ossidazione;

la prova 3 si riferisce al dosamento « diretto » della silice solubile, in soluzione esente di acido fosforico, con la tecnica descritta in altra nota (4), con le sole varianti di usare l'acido ascorbico in luogo del solfato d'idrazina e una quantità doppia del reattivo molibdico;

la prova 4 dimostra che l'ossidazione con permanganato e il successivo ripristino del bleu di molibdeno non hanno alcun effetto sulla entità dell'estinzione del bleu siliciato medesimo;

la prova 5 dimostra che è possibile ottenere quantitativamente e contemporaneamente i due bleu (fosforato e siliciato);

la prova 6 dimostra che è possibile evitare quantitativamente la formazione del bleu di molibdeno siliciato senza influire sulla estinzione del bleu fosforato, realizzandosi così il dosamento « diretto » dell'acido fosforico in presenza di piccole quantità di silice solubile, con la tecnica descritta in altra nota (3), con le sole varianti già dette;

la prova 7 dimostra che è possibile dosare « direttamente » la sola silice solubile, in presenza di acido fosforico, dopo aver provocato la formazione dei due etero-poli-acidi, acidificando convenientemente la soluzione, prima di aggiungere il riducente;

la prova 8 infine dimostra che è possibile distruggere la quota di bleu spettante all'acido fosfo-molibdico, nella mescolanza dei due bleu, ricavando così « direttamente » l'estinzione che compete al bleu di molibdeno siliciato e « indirettamente » la estinzione che compete al bleu di molibdeno fosforato.

Prova n.	Soluzione SiO_2 mg 0,1/cc cc	Soluzione P_2O_5 mg 0,1/cc cc	H_2O cc	H_2SO_4 8 N cc	Reattivo molibdico cc	Riposo minuti	H_2SO_4 8 N cc	Sol[…] rid[…]
1	—	4	50	9,0	10	—	—	
2	—	4	50	9,0	10	—	—	
3	4	—	50	0,6	10	15	8,4	
4	4	—	50	0,6	10	15	8,4	
5	4	4	50	0,6	10	15	8,4	
6	4	4	50	9,0	10	—	—	
7	4	4	50	0,6	10	15	23,4	
8	4	4	50	0,6	10	15	8,4	

Le molteplici possibilità di dosamento, « diretto » o « indiretto », tanto dell'acido fosforico che della silice solubile hanno, a nostro parere, un notevole interesse sia perchè consentono di controllare l'esattezza dei risultati sia perchè permettono di applicare la ceruleo-molibdimetria in casi nei quali non sarebbe consigliabile seguire la tecnica ormai consueta di questa determinazione perchè potrebbe condurre ad errori grossolani, dovuti alle esposte interferenze reciproche.

Esempi di tali applicazioni si sono attuati in questo Istituto quando si è affrontato il dosamento dell'acido fosforico minerale in presenza di esteri fosforici in liquidi biologici nei quali è normalmente contenuta anche della silice solubile * e il dosamento dell'acido fosforico in estratti acquosi di terreno in condizioni di debole acidità, che non permettono di escludere l'interferenza della silice solubile *.

RIASSUNTO

Viene descritto un nuovo procedimento per dosare « direttamente » per via ceruleo-molibdimetrica piccole quantità di silice solubile in presenza di piccole quantità di acido fosforico. Esso completa il quadro delle determinazioni colorimetriche dei fosfati minerali e della silice solubile in soluzioni che li contengono entrambi, e permette di controllare l'esattezza dei risultati quando venga opportunamente integrato dai dosamenti già descritti in altre note: quello « diretto » di piccole quantità di acido fosforico in presenza di piccole quantità di silice solubile e quello « globale » di piccole quantità di detti acidi.

* Note in corso di pubblicazione.

TABELLA X

aria	H_2SO_4 8 N	KMn O_4	Soluzione riducente	Bagno-maria	Trasparenza	Estinzione specifica	Estinzione specifica (tabelle I e II)	Differenza dal calcolato
i	cc	cc	cc	minuti	T %	k trovato	k calcolato	Δ k
	—	—	—	—	29,7	0,527	0,527	0,000
	15	q. b.	2	30	100,0	0,000	0,000	0,000
	—	—	—	—	38,5	0,414	0,414	0,000
	15	q. b.	2	30	38,7	0,412	0,414	— 0,002
	—	—	—	—	11,6	0,936	0,941	— 0,005
	—	—	—	—	29,9	0,524	0,527	— 0,003
	—	—	—	—	38,6	0,413	0,414	— 0,001
	15	q. b.	2	30	38,5	0,414	0,414	0,000

Viene descritta una nuova ed originale tecnica che consente di determinare « direttamente » la sola silice solubile partendo da soluzioni contenenti i due bleu di molibdeno (fosforato + siliciato) e anche di dosare « indirettamente » piccole quantità di fosfati minerali in presenza di quantità di silice solubile relativamente enormi: in vari casi di interesse pratico, su alcuni dei quali verrà riferito in prossime note, l'applicazione della nuova tecnica evita gli errori ai quali condurrebbe la inevitabile interferenza che la silice solubile può esercitare sul dosamento « diretto » dell'acido fosforico.

SUMMARY

PHOTOMETRIC DETERMINATION OF BOTH MINERAL PHOSPHATE AND SOLUBLE SILICA IN THE PRESENCE OF EACH OTHER

by CARLO FERRARI and PIETRO LUGO

A new analytical procedure, based on the molybdenum blue (' phosphorated ' and ' silicated ') is described: soluble silica at low concentrations can be ' directly ' determined in the presence of small amounts of mineral phosphate. Ferrari's previously reported procedures for determining directly ' both phosphoric acid in the presence of silica and the ' total value ' of the two acids, are herewith integrated and completed: the exactness of the result can be thus checked with the greatest accuracy.

A procedure is also described for the 'direct' determination of the soluble silica only, starting from solutions of both 'phosphorated' and 'silicated' molybdenum blue. In such a way it is also quite possible to evaluate 'indirectly' small amounts of mineral phosphate when soluble silica is present at comparatively enormous concentrations. In several cases of practical interest to which reference will be made in later papers, the application of the new technique avoids errors led to by the inevitable interference which the soluble silica can exert on the 'direct' measurement of phosphoric acid.

BIBLIOGRAFIA

(1) FERRARI, C. Analisi microchimiche colorimetriche. Bologna, Ed. Dr. Cesare Zuffi, 1947, 47-64.

(2) FERRARI, C. Ricerche di microanalisi fotometrica. IV. - Dosamento colorimetrico dell'acido fosforico. *Memorie Accad. Scienze Istituto*, Bologna, 1935-36, serie IX, tomo III, 57-65; e l. c. (1).

(3) FERRARI, C. I bleu di molibdeno e il dosamento colorimetrico dell'acido fosforico in presenza di acido silicico. *Memorie Accad. Scienze Istituto*, Bologna, 1936-37, serie IX, tomo IV, 63-68; e l. c. (1).

(4) FERRARI, C. Über die photometrische Mikrobestimmung der Kieselsäure. *Mikrochemie.* Wien 1951, 36-37, 585-593.

(5) FERRARI, C. Osservazioni sul comportamento dell'acido silicico-molibdico in soluzione acquosa. *Gazzetta Chimica Italiana*, Roma, 1951, 81, 692-709.

(6) FERRARI, C. Contributo alla conoscenza del bleu di molibdeno fosforato. *Gazzetta Chimica Italiana*, Roma, 1951, 81, 795-818.

Ricevuto il 3 giugno 1952.

LABORATORIO SPERIMENTALE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Gabriele Goidànich)
E
LABORATORIO ANALISI SEMENTI
(Direttore: Ettore Mancini)
BOLOGNA

A. Canova e R. Baldoni

PROVE DI DISINFEZIONE DEI GLOMERULI DI BARBABIETOLA

Sulla questione della disinfezione dei glomeruli di barbabietola e sui prodotti per essa più idonei, come pure sugli effetti che tali prodotti esercitano sul potere germinativo della semente di questa per noi così importante pianta industriale, esiste una abbondante bibliografia; ma i dati che essa offre non sempre sono concordanti fra di loro nè sono sufficientemente dimostrativi per poterne trarne indicazioni precise. Pertanto abbiamo creduto fosse opportuno ripetere esperienze sull'argomento introducendo in esse certi accorgimenti coi quali si riuscisse a eliminare i dubbi a cui si è accennato.

Lo spunto a compiere queste indagini ci è stato dato dalle manifestazioni allarmanti verificatesi nella decorsa primavera, nella coltivazione della pianura padana, di « mal del piede », malattia per la quale notoriamente il trattamento disinfettante del seme può esercitare benefici effetti.

Poichè l'agente del « mal del piede » nella decorsa campagna 1951 era risultato, nella maggior parte dei casi, *Phoma betae* Frank, e in considerazione anche del fatto che questo microrganismo per le sue caratteristiche morfologiche si può considerare, fra quelli che possono trovarsi sui glomeruli di barbabietola, più resistente all'azione dei fungicidi, le nostre esperienze, di cui ora riferiamo, sono state eseguite con riferimento ad esso.

Tutte le prove sull'efficacia fungicida dei prodotti furono eseguite applicando il metodo già da noi sperimentato e descritto in una precedente Nota, consistente essenzialmente nella semina dei glomeruli sotto controllo, su agar semplice addizionato di materiale naturale (pezzi di foglia di erba

medica o di culmo di grano sterilizzati a freddo) favorente lo sviluppo e l'individuazione degli organi riproduttivi del parassita e quindi facilitante l'individuazione esatta del grado di infezione della semente. Con tale procedimento fu innanzi tutto passato in rassegna un campionario di seme di bietola di varietà e provenienza diversa (1951) coi risultati di cui alla annessa tabella I. Di tutti questi campioni ne sono stati scelti cinque che, come si vede, presentano vari gradi di infezione.

Le prove furono compiute sia in germinatoio che in piena terra in duplicato; una prima volta durante l'inverno e la seconda nel periodo che coincide con la semina in campo di tale pianta.

Nel corso di esse sono stati raccolti per tutte le cinque varietà tutti i dati che figurano nelle tabelle II, III, IV, V, VI e VII. Tali tabelle si riferiscono, per ragioni di economia di spazio solamente alle varietà: « Alba 922 », « Klein N » e « Dieckman E » (aventi rispettivamente una infezione leggera, media e forte), dato che le altre non presentano alcunchè di sostanzialmente diverso.

I prodotti usati sono stati i seguenti:

Mercurigamma: a base di composti organici del mercurio addizionati dell'isomero gamma;

Agrosan G N: sempre a base di composti organici del mercurio;

Sesan: a base di chinoni alogenati e microelementi;

Spergon: a base di tetracloroparabenzochinone;

Polvere Rumianca: a base di ossicloruro di rame;

Fernasan: a base di tetrametiltiuramdisolfuro.

Tabella I

Percentuale d'infezione di *Phoma betae* nei semi di bietola di varietà italiane e straniere, nel 1951

Varietà	Infezione %		Varietà	Infezione %	
« Klein E »	60	± 10,2	« Dieckmann E »	85	± 10,2
« Dippes E »	45	10,2	« Italsementi N P »	18,5	10,2
« Cambier »	45	10,2	« Klein N »	45	10,2
« Cesena N »	25	10,2	« Cesena P »	17,2	10,2
« Mezzano P »	12,5	10,2	« Alba 1951 »	10	10,2
« Klein Z »	2	10,2	« Bonora P »	20	10,2
« Alba P 4330 »	7,5	10,2	« Maribo »	72,5	10,2
« Alba 922 »	12,5	10,2	« Dieckmann Z »	77,5	10,2
« Hilleshog »	57,5	10,2	« Zwaanesse I »	30	10,2
« Cesena Z »	10	10,2	« Desprez T M »	32,5	10,2
« Zwaanesse III »	42,5	10,2	« Mezzano N »	0	0
« Janazz »	15	10,2	« Mezzano Z »	0	0

Prove di disinfezione

I glomeruli dopo avere subìto il trattamento vennero posti a germinare in terra, sia subito dopo la « concia » sia venti giorni dopo. A germinazione avvenuta venivano estratti e posti in scatole Petri, preparate col metodo descritto, per stabilire se il fungo (*Phoma*) era ancora vitale, (cioè non aveva subìto l'influenza dell'anticrittogamico), e in quali proporzioni.

Tabella II

Effetto sterilizzante dei vari prodotti concianti nei glomeruli posti a germinare in terra subito dopo il trattamento. Le cifre delle colonne indicano il numero dei glomeruli ancora infetti alla fine dell'esperimento (dati riferiti a 100 semi)

Prodotti concianti	« Alba 922 »	« Klein N »	« Dieckmann E »	Totale	%
Mercurigamma	0	3	10	13	4,3 ± 6,8
Agrosan G N	4	6	10	20	6,7 ± 6,8
Sesan	4	23	30	57	19 ± 6,8
Spergon	20	30	33	83	27,7 ± 6,8
Polvere Rumianca	4	26	33	63	21 ± 6,8
Fernasan	0	3	0	3	1 ± 6,8
Testimonio	13	40	54	107	35,7 ± 6,8

Tabella III

Effetto sterilizzante dei vari prodotti concianti nei glomeruli posti a germinare in terra venti giorni dopo il trattamento. Le cifre delle colonne indicano il numero dei glomeruli ancora infetti alla fine dell'esperimento

Prodotti concianti	« Alba 922 »	« Klein N »	« Dieckmann E »	Totale	%
Mercurigamma	0	0	0	0	0
Agrosan G N	0	0	0	0	0
Sesan	0	0	10	10	3,3
Spergon	3	4	20	27	9
Polvere Rumianca	3	10	7	20	6,7
Fernasan	0	0	0	0	0

Dall'esame dei dati riportati nelle tabelle II e III si deduce:

a) la limitata efficacia mostrata dallo Spergon, dalla Polvere Rumianca e dal Sesan;

b) l'ottima prova del Fernasan in modo particolare, e dei prodotti a base di composti organici del mercurio (Mercurigamma, Agrosan G N);

TABELLA IV

Effetti del trattamento conciante sui glomeruli messi a germinare su carta da filtro subito dopo il trattamento

Prodotti concianti	« Alba 922 »				« Klein N »				« Dieckmann E »			
	Germinabilità %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Energia germinativa	Germinabilità %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Energia germinativa	Germinabilità %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Energia germinativa
Mercurigamma . .	70	148	85.396	6,17	86	197	127.459	4,08	86	224	149.184	5,50
Agrosan G N . . .	62	142	81.934	7,20	78	146	94.462	6,18	80	200	133.200	6,25
Sesan	70	140	80.780	6,80	58	130	84.110	5,50	64	164	109.224	4,08
Spergon	68	174	100.398	6,70	60	136	87.992	6,56	86	191	127.206	3,81
Polvere Rumianca .	76	197	113.669	6,80	74	189	122.283	5,83	86	208	138.528	4,90
Fernasan	78	188	108.476	6,10	80	192	124.224	5,50	94	207	137.862	4,87
Testimonio	58	124	71.548	2,60	72	144	93.168	3,38	84	210	139.860	2,61

TABELLA V

Effetti del trattamento conciante sui glomeruli messi a germinare su carta da filtro venti giorni dopo il trattamento

Prodotti concianti	« Alba 922 »				« Klien N »				« Dieckmann E »			
	Germinabilità %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Energia germinativa	Germinabilità %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Energia germinativa	Germinabilità %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Energia germinativa
Mercurigamma . .	60	138	79.626	6,20	62	122	80.032	6,12	70	145	96.570	7,51
Agrosan G N . . .	82	164	94.628	6,13	80	160	103.520	5,67	88	176	117.216	4,13
Sesan	84	172	99.244	5,83	60	123	80.679	5,40	90	180	119.880	3,74
Spergon	68	149	86.550	4,10	78	150	97.050	3,92	86	178	118.548	3,97
Polvere Rumianca .	74	150	86.973	4,87	64	138	89.286	4,28	92	188	125.208	3,89
Fernasan	79	151	86.788	4,53	80	141	91.227	5,52	94	199	132.534	4,87
Testimonio	58	126	72.702	2,59	72	154	100.638	3,38	84	176	117.216	2,61

c) l'efficacia contro *Ph. betae* nei vari prodotti aumenta con la permanenza di questi a contatto del seme, prima che questo venga posto a germinare.

Ricerca di una eventuale influenza sul potere germinativo

Per l'individuazione di tale azione i glomeruli furono messi a germinare in scatole Petri, su carta bibula tenuta bagnata, e in terra. Le prove furono fatte sia subito dopo il trattamento che venti giorni dopo, sempre in duplicato: una prima volta, cioè, durante l'inverno e la seconda durante

Tabella VI

Effetti del trattamento conciante sui glomeruli messi a germinare in terra subito dopo il trattamento

Prodotti concianti	Germinabilità 7° giorno %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Germinabilità 14° giorno %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Energia germinativa
«Alba 922»							
Mercurigamma . .	70	191	112.515	84	203	117.131	7,66
Agrosan G N . . .	82	180	104.630	81	212	122.324	7
Sesan	79	163	94.051	87	182	105.014	7,25
Spergon	80	164	94.628	84	191	110.207	7
Polvere Rumianca .	85	151	87.127	85	203	117.131	7,19
Fernasan	85	169	97.513	87	205	118.825	7
Testimonio	80	170	98.090	84	174	100.398	7,19
«Klein N»							
Mercurigamma . .	74	190	122.513	82	193	124.471	7,39
Agrosan G N . . .	71	119	76.953	77	179	115.773	7,31
Sesan	84	161	104.167	85	167	107.949	7
Spergon	80	136	87.992	90	170	110.000	7,44
Polvere Rumianca .	75	184	119.048	87	191	123.577	7,54
Fernasan	79	163	105.461	78	167	106.108	7
Testimonio	69	138	89.286	74	161	104.167	7,27
«Dieckmann E»							
Mercurigamma . .	88	205	136.513	87	205	136.513	7
Agrosan G N . . .	87	200	133.200	89	240	159.840	7
Sesan	88	200	133.200	86	197	131.202	7
Spergon	85	179	119.214	88	189	125.874	7,13
Polvere Rumianca .	88	203	135.198	88	200	133.200	7
Fernasan	81	146	97.236	82	204	125.874	7
Testimonio	87	193	128.538	86	196	130.536	7

Tabella VII

Effetti del trattamento conciante sui glomeruli messi a germinare in terra venti giorni dopo il trattamento

Prodotti concianti	Germinabilità 7° giorno %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Germinabilità 14° giorno %	Numero germogli su 100 semi	Numero germogli per kg	Energia germinativa
«Alba 922»							
Mercurigamma . .	71	164	94.628	84	171	98.667	5
Agrosan G N . . .	80	175	100.975	82	183	105.591	4,17
Sesan	82	180	104.690	85	193	111.361	4,71
Spergon	86	210	121.170	85	207	119.439	4
Polvere Rumianca .	84	177	102.129	84	178	102.706	4
Fernasan	85	193	161.361	86	203	117.131	4
Testimonio	88	196	113.092	89	199	114.823	4
«Klein N»							
Mercurigamma . .	74	171	110.637	79	185	119.685	4,44
Agrosan G N . . .	75	156	100.932	77	169	109.343	4,18
Sesan	68	136	87.992	76	174	112.578	4,73
Spergon	77	158	102.226	83	182	121.066	4,50
Polvere Rumianca .	73	181	117.607	80	188	121.713	4,61
Fernasan	73	147	95.109	78	175	113.225	4,64
Testimonio	71	142	91.874	72	151	79.679	4
«Dieckmann E»							
Mercurigamma . .	89	194	129.204	85	193	128.534	4,10
Agrosan G N . . .	72	151	100.568	76	171	113.886	4,36
Sesan	80	185	123.210	84	199	132.534	4,33
Spergon	73	158	104.228	89	192	127.872	5,14
Polvere Rumianca .	74	177	117.882	86	195	129.870	4,97
Fernasan	77	179	119.214	85	201	133,866	4,65
Testimonio	79	162	107.892	81	194	129.204	4,10

il periodo che coincide con la semina in campo di tale pianta. Le osservazioni sulla germinabilità dei glomeruli furono eseguite giornalmente su quelli in germinatoio; dopo sette e quattordici giorni, dalla semina, su quelli in terra.

Dai dati riportati nelle tabelle IV, V, VI e VII si deduce:

a) nelle prove su carta da filtro i prodotti non hanno mostrato nessuno effetto sulla germinabilità dei glomeruli, tanto che questa poteva risultare anche inferiore a causa dell'attività delle muffe saprofite che in tale ambiente si sviluppavano rapidamente sui glomeruli non disinfettati e ne ostacolavano la germinazione. Un effetto negativo invece si è avuto sulla rapidità di germinazione, specialmente dai prodotti mercurio-organici.

Azione negativa che si può dire non aumenti con la permanenza di tali polveri fungicide a contatto della superficie del glomerulo;

b) nelle prove in piena terra nessuna azione si è avuta sul processo germinativo dei glomeruli (almeno le differenze dei dati ottenuti non sono statisticamente significative).

Dagli stessi dati, quantunque ricavati da un numero limitato di semi, ci sembra dover dedurre che l'azione esaltante o deprimente del potere germinativo osservata da altri autori, vada più che altro riportata alle condizioni in cui si eseguono gli esperimenti. In altre parole, a noi è apparso che l'azione fitotossica sia imputabile all'alto grado di concentrazione della sostanza che permane in vicinanza dell'apparato radicale della plantula allorchè si opera in germinatoio, contrariamente a quello che avviene quando si opera, sperimentalmente o meno, in piena terra.

Del fatto d'altronde dà conferma l'osservazione da noi fatta che gli effetti fitotossici vengono a mancare anche in germinatoio, allorchè si abbia l'accorgimento di cambiare di tanto in tanto la carta bibula sulla quale poggiano i semi.

Ultimo dato osservato nelle nostre prove è che un contatto anche prolungato degli anticrittogamici presi in prova, con i glomeruli, prima che essi vengano posti in condizioni di germinare, non esercita alcuna azione nociva (vedi tabelle V e VII). È possibile quindi eseguire la concia dei semi di barbabietola con un certo anticipo rispetto all'epoca di semina, come può essere richiesto dalla pratica.

Anticipo che, oltre tutto, appare consigliabile tenendo conto delle osservazioni fatte da altri autori sul possibile moltiplicarsi ed aggravarsi delle infezioni fungine nei semi posti in magazzino.

Conclusioni

Le prove fatte mentre hanno confermato l'efficacia, come mezzi di disinfezione dei semi, dei prodotti oramai largamente conosciuti a base di composti organici del mercurio, hanno messo in evidenza una efficacia maggiore per quelli a base di tetrametiltiuramdisolfuro. Prodotti quest'ultimi che mentre vengono largamente usati all'estero, con ottimi risultati, sono scarsamente conosciuti se non ignorati da noi.

L'influenza dei prodotti chimici presi in esame sul fenomeno germinativo, messa in evidenza da alcuni sperimentatori, non è invece apparsa dalle nostre esperienze, sia nei trattamenti fatti subito prima della semina che in quelli anticipati.

RIASSUNTO

Si riferisce su prove di laboratorio di disinfezione dei glomeruli di barbabietola infettati da *Phoma betae*, eseguite con vari prodotti (Mercurigamma, Agrosan G N, Sesan, Spergon, Polvere Rumianca, Fernasan).

Nessuna azione hanno dimostrato tali prodotti sul processo germinativo anche quando essi restavano a contatto del seme per un certo periodo di tempo prima della germinazione del glomerulo.

SUMMARY

EXPERIMENTS OF DISINFECTION OF THE SUGAR-BEET SEEDS

by A. Canova and R. Baldoni

Experiments of disinfection of the sugar-beet seeds infected by *Phoma betae*, hare been made utilizing some products (Mercurigamma, Agrosan G N, Sesan, Spergon, Polvere Rumianca, Fernasan).

The results showed that the products used had no effect on the germination even if the treatment was performed some time before the germination of the seeds.

BIBLIOGRAFIA

Afanasiev, M. M., and Morris, H. E. Control of seedling diseases of sugar beets in Montana. *Phytopathology*, 1942, XXXIII, 477-486.

Baldoni, R., e Canova, A. Un metodo per il rapido riconoscimento dei semi di barbabietola infettati da *Phoma betae*. *Ann. Sper. Agr.*, 1951, n. s., VI, 435-442.

Ciferri, R., Scaramuzzi, G., e Vidali, A. Indagini preliminari sulla germinabilità dei glomeruli di barbabietola « conciati » con prodotti anticrittogamici ed insetticidi. *Notiziario sulle Malattie delle Piante*, 1950, 10.

Foster, A. A. Acceleration and retardation of germination of some vegetable seeds resulting from treatment with copper fungicides. *Phytopathology*, 1947, XXXVII, 390-397.

Leach, L. D., and Houston, B. R. Seed treatment for the control of damping off of sugar beets in northern California. *Phytopathology*, 1938, XXVIII, 671.

Leach, L. D. Seed-borne *Phoma* and its relation to the origin of sugar beet lots. *America Society Sugar Beet Technologists*, 1946, 381-388.

Leach, L. D. Incidence of *Phoma* infection on sugar beet seeds and the efficacy of seed treatment. *Phytopathology*, 1944, XXXIV, 935.

Leukel, R. W. Recent development in seed treatment. *The Botanical Review*, 1948, XIV, 235-269.

McNew, G. L. Relative effectiveness of organic and inorganic fungicides as seed protectants. *Phytopathology*, 1943, XXXIII, 3.

Newton, W., and Boscher, J. E. The longevity of *Phoma betae* in garden beet seed. *Scientific Agriculture*, 1946, XXVI, 305-306.

Trentin, A. Osservazioni sul trattamento antesemina dei glomeruli di barbabietola da zucchero con prodotti polverulenti a base di esaclorocicloesano. *Ann. Sper. Agr.*, 1951, n. s., V, 1223-1240.

Walker, J. C. Vegetable seed treatment. *Botanical Review*, 1948, XIV, 588-601.

Ricevuto il 3 giugno 1952.

LABORATORIO SPERIMENTALE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Gabriele Goidànich)
BOLOGNA
E
STAZIONE SPERIMENTALE
DI FRUTTICOLTURA E DI AGRUMICOLTURA
(Direttore: Gaetano Ruggieri)
ACIREALE

Sebastiano Di Caro

MARCIUME DEI RAMI DEGLI AGRUMI DA *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (LIB.) DE BY.

La *Sclerotinia sclerotiorum* è un fungo molto noto per la sua notevole polifagia e la varietà del suo *habitat*. Essa si sviluppa tanto sulle piante in vegetazione, quanto sugli organi staccati di queste, quali tuberi, bulbi e frutti, di cui induce un marciume generalizzato.

Le piante erbacee sono quelle maggiormente soggette all'attacco di tale parassita, che ne attacca con preferenza la zona del colletto o le parti ipogee, provocandone la marcescenza e, spesso, conseguentemente la morte dell'intero individuo; piuttosto eccezionale è invece l'attacco di *Sclerotinia* alle parti legnose dei vegetali.

Per quanto riguarda in particolare gli agrumi, il parassita è molto comune sui frutti di tutte le specie, su cui provoca danni rilevanti più che altro durante il trasporto e la conservazione.

Il marciume da *Sclerotinia* sui rametti degli agrumi è un fenomeno piuttosto raro sotto le condizioni ambientali in cui si svolge l'agrumicoltura nostrana e straniera; comunque la presenza sulla pianta di tale parassita è stata già osservata e segnalata: ad esempio in California è stata messa in rapporto con la comparsa della gommosi; ed in Sicilia, dove si è manifestata in maniera caratteristica per la formazione degli sclerozi in corrispondenza dell'inserzione dei piccioli sui rametti.

Nel decorso inverno, verosimilmente favoriti dall'andamento stagionale eccezionalmente umido, si sono avuti altri casi di attacco di *Scl. sclerotiorum* su rami di agrumi in alcune località della Sicilia. Fortunatamente, però, almeno per il momento essi non hanno assunto importanza pratica sia per numero dei soggetti colpiti sia per l'estensione delle alterazioni e, quindi, per le conseguenze di queste sulla vitalità della pianta.



Fig. 1. — Rametto di limone colpito da *Sclerotinia sclerotiorum*: sono ben evidenti i cuscinetti micelici del parassita.

Gli attacchi di *Sclerotinia* si verificano nel tardo autunno od in inverno poichè le condizioni ambientali che ne favoriscono lo sviluppo sono una notevole umidità dell'aria ed una temperatura relativamente fredda.

Poichè il parassita non sembra capace di invadere i tessuti sani ed in piena attività vegetativa, ma penetra nell'ospite attraverso ferite superficiali della corteccia o dai petali dei fiori prossimi a cadere, la malattia può manifestarsi in qualsiasi punto della pianta; tuttavia il caso più frequente è quello di riscontrarla nella vegetazione periferica, su rami di 1-2 anni.

I due casi che qui brevemente descriviamo sono stati osservati, rispettivamente su limone ed arancio, in agrumeti siti in zone molto umide della provincia di Catania. In essi i sintomi e le conseguenze dell'infezione erano molto differenti e, a nostro giudizio, non tanto per la diversità dell'ospite, quanto per la diversa localizzazione del parassita.

Sul limone, infatti, l'alterazione aveva avuto origine su un rametto di un anno, a circa trenta centimetri dall'apice e si era diffusa in senso longitudinale verso il basso per una lunghezza di 8-10 cm ed in senso trasversale fino ad abbracciare tutta la circonferenza dell'organo colpito.

Nella zona infetta i tessuti apparivano profondamente alterati, tuttavia attraverso un attento esame di essi, se ne potevano ancora seguire le successive modificazioni. La corteccia, dapprima, aveva un color verde-penicillina poi bruno all'apice, indi in alcuni punti si disseccava; a questo disseccamento seguiva, per azione del parassita, una sorta di macerazione dei tessuti corticali e di parte di quelli floematici, per cui si mettevano a nudo gli elementi legnosi. Più tardi tutta la parte colpita si ricopriva di un'abbondante formazione micelica, bianca, cotonosa, che in alcuni punti appariva sotto forma di cuscinetti. A questo stadio l'alterazione spiccava molto evidente rispetto alle zone sovrastanti e sottostanti indenni, che mantenevano la loro tinta ed il loro aspetto normale. Successivamente però le porzioni apicali del rametto andavano soggette a disseccamento.

Molto più grave era il caso dell'arancio, poichè qui l'alterazione, essendo localizzata poco al disopra delle ramificazioni principali, faceva risentire la sua azione su un'intera branca e determinava quindi un danneggiamento molto più esteso ed appariscente.



FIG. 2. — Colonia di *Scl. sclerotiorum* in substrato artificiale. La metà di sinistra è stata fotografata su fondo bianco per mettere in evidenza la formazione degli sclerozi; l'altra su fondo nero per osservare lo sviluppo del micelio).

Tuttavia i sintomi esterni della zona di infezione, seppure ben visibili per l'abbondante formazione di grossi cuscinetti micelici, sparsi senz'ordine su tutta la circonferenza, erano molto meno evidenti; nella corteccia infatti non era visibile alcun scoloramento o disseccamento.

Differenti invece erano le modificazioni strutturali non solo dei tessuti corticali, ma anche in parte di quelli della zona del cambio; i primi infatti potevano essere lacerati con estrema facilità mentre i secondi erano divenuti friabili.

Nè all'esterno nè all'interno si era avuta emissione di gomma.

Sia nel caso del limone che dell'arancio non si è avuta la comparsa sull'ospite dei caratteristici sclerozi nè in natura nè dopo molto tempo di permanenza del materiale in laboratorio; questi organi invece si sono abbondantemente formati ai bordi della colonia in substrato artificiale, ottenuta sia per semina dei cuscinetti micelici, che da porzioni di tessuto infetto.

Data la limitata diffusione della malattia descritta non è il caso di suggerire particolari metodi di lotta; le ordinarie pratiche di rimonda degli agrumi saranno sufficienti ad eliminare gli organi colpiti e quindi ad allontanare l'infezione. In ogni caso, per criterio prudenziale, è consigliabile che la vegetazione asportata venga allontanata dall'agrumeto e distrutta col fuoco onde impedire la sopravvivenza degli sclerozi e di qui la possibilità di nuove infezioni.

RIASSUNTO

Sono descritti due casi di marciume da *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De By. su rami di limone e di arancio, osservati in agrumeti siti in zone molte umide della provincia di Catania. Nel primo l'infezione, localizzata nella vegetazione periferica su un rametto di un anno, induceva un marciume della zona colpita ed il disseccamento di tutta la porzione apicale del ramo.

Nel secondo, l'attacco si era verificato poco al disopra delle ramificazioni principali provocando il disseccamento di tutta la branca.

SUMMARY

A BRANCH ROT OF CITRUS CAUSED BY *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (LIB.) DE BY.

by Sebastiano Di Caro

Two cases of rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De By. on branches of lemon and orange trees are described; they were observed in citrus groves situated in very damp zones of the Catania province. In the first, the infection, which was localized in the peripheral vegetation on a twig of one year, caused a decay of the zone attacked and the withering of the whole apical portion of the branch.

In the second case, the attack appeared a little above the principal ramification, provoking the withering of the whole branch.

BIBLIOGRAFIA

(1) Fawcett, H. S. Citrus diseases and their control. New York, McGraw-Hill, 1936, pp. 329-331 e 134-137.

(2) Ruggieri, G. Marciume dei rametti di arancio amaro prodotto da *Sclerotinia* sp. *Boll. della R. Staz. di Pat. vegetale*, Roma, 1933, XI. pp. 140-142.

(3) Viennot-Bourgin, G. Les champignons parasites des plantes cultivées. Paris, Masson, 1949, p. 742-748.

Ricevuto il 3 giugno 1952.

ISTITUTO DI COLTIVAZIONI ARBOREE
(Direttore inc.: Nino Breviglieri)
PADOVA
E
ISTITUTO DI COLTIVAZIONI ARBOREE
(Direttore: Alessandro Morettini)
FIRENZE

Nino Breviglieri

STUDI E RICERCHE SULLA BIOLOGIA FIORALE E DI FRUTTIFICAZIONE DEL MELO NEL FERRARESE

Parte II *

LA STERILITÀ CITOLOGICA

Genesi anormale del polline e dell'ovocellula

In precedenza si è indicato il processo della normale genesi dei granelli pollinici e dell'ovocellula; fa d'uopo ora considerare la genesi anormale:

a) del polline

È stato dimostrato che l'assetto anormale dei cromosomi influisce sulla costituzione del granello pollinico con varie anomalie fin dall'istante nel quale la cellula madre del polline subisce la meiosi, specie poi nella diacinesi, intercinesi, come pure nella mitosi omeotipica.

Nei casi della anormalità, nella diacinesi, oltre ai normali gemini (bivalenti) si possono avere uno o più cromosomi univalenti; questi si possono unire ai bivalenti e originare in tal modo trivalenti o tetravalenti (come anche ha posto in evidenza il De Angeli, 1938 1939). Inoltre, alla diacinesi di un poliploide, non infrequentemente si riscontra la coesistenza di cromosomi trivalenti con monovalenti, ed anche di bivalenti con più monovalenti (Crane e Lawrence, 1938). Nella varietà di pero « Alexander Lucas » con 56 cromosomi, il Florin (1927) osservò che taluni cromosomi potevano restare univalenti e che gli univalenti si por-

* Per la parte I del presente lavoro, vedi questi *Annali*, 1953, n. s., vol. VII, n. 1.

tavano con ritardo in piastra equatoriale nella metafase e sostavano lungo il fuso nell'anafase in confronto ai bivalenti.

I cromosomi monovalenti possono andare soggetti ad un processo di scissione longitudinale ad una delle due divisioni meiotiche e possono rimanere esclusi dalla costituzione dei nuclei figli per il loro ritardo lungo il fuso.

Le anormalità dell'intercinesi conducono a rilevare che i due nuclei intercinetici possono essere apparentemente normali ma contenere frammenti di cromosomi, oppure due nuclei intercinetici possono presentare ciascuno in aggiunta un micronucleo, ciò che avviene quando il cromosoma dopo la scissione longitudinale non ha raggiunto in tempo i poli, oppure può esserci un solo micronucleo quando il cromosoma univalente è rimasto fuori dell'area del fuso.

Nella metafase della divisione omeotipica si notano i due fusi derivati dai due nuclei della diade e talvolta in aggiunta qualche cromosoma che non si divide ulteriormente, andando soggetto poscia a degenerazione. Nel caso di diade con un micronucleo secondario o con più micronuclei secondari, nella metafase della divisione omeotipica, si trovano diversi fusi e cioè quelli grandi derivati dai macronuclei e i microfusi derivati dai micronuclei, come osservò il Florin (1927). Ciò porta alla produzione di micronuclei supplementari e alla formazione di un numero maggiore o minore di granuli pollinici anche di grandezza e di contenuto citoplasmatico variabile.

Si hanno dunque casi di polisporia quando nelle tetradi si hanno granuli pollinici in numero maggiore di quattro. In contrapposto, si ha policaria quando la tetrade possiede uno o due soli granuli pollinici ciascuno con più nuclei.

La fig. 9 rappresenta vari stadi di formazione anormale del polline in meli.

Al riguardo facciamo riferimento anche alle ricerche di Shoemaker (1926) su « Stayman Winesap ».

Nel melo « Gravenstein » il Florin notò una degenerazione delle microspore dopo la loro liberazione; egli osservò pure la degenerazione delle logge delle antere.

È noto che il polline anormale non germina o germina molto scarsamente. Si hanno numerosi casi di questa sterilità citologica che, già intraveduta da studiosi all'inizio del secolo, è stata poi sperimentalmente dimostrata. Essa è dovuta al numero cromosomico aneuploide o alla mancanza di affinità fra i cromosomi di gruppi euploidi, con conseguenti fenomeni degenerativi del nucleo cellulare e in seguito del plasma, come già si è detto.

Nel 1925-26 Shoemaker (1926) e Kobel (1926) contemporaneamente fecero le prime indagini citologiche dalle quali risultò una divisione riduzionale normale nella « Delicious » e nella « Rosa di Berna », e aberrazioni di più o meno rilievo nella « Stayman Winesap », nella « Bella di Boskoop », nella « Gravenstein », nella « Bonapfel » a causa di cromosomi sopranumerari.

Gli studi citologici più importanti sulle Pomacee sono quelli di Rybin (1926), Kobel (1926-27), Florin (1927), Howlett (1927), Heilborn (1928), Crane e Lawrence (1929), Nebel (1929), Darlington e Moffet (1930), Natividade (1932), ecc.

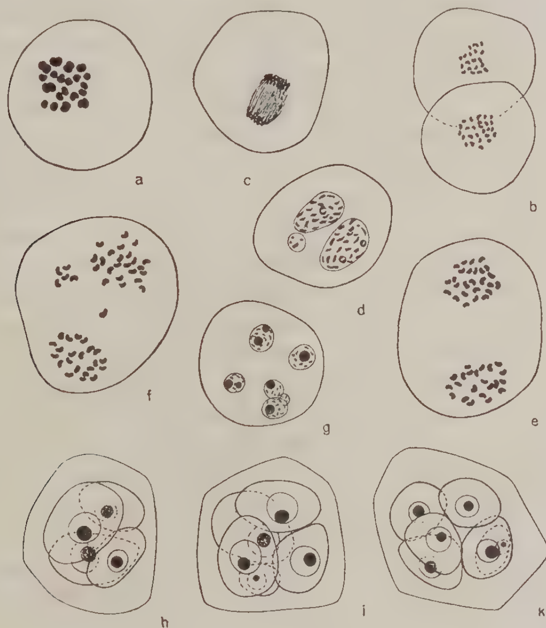


FIG. 9. – Formazione di polline anormale in meli e peri triploidi; *a*) metafase di una divisione riduzionale di « Renetta Damson »; i cromosomi sono di grandezza irregolare; *b*) anafase della divisione riduzionale di « Butirra Diel »; si può contare un gruppo cromosomico con 26 e uno con 19 cromosomi; *c*) anafase quasi completata della divisione riduzionale in « Curato »; sono rimasti alcuni cromosomi nel fuso; *d*) fase binucleata in « Curato » con piccolo nucleo sopranumerario; *e*) metafase in « Winterzitrone » in una placca si contano 22 e nell'altra 26 cromosomi; *f*) il medesimo stadio in « Bäriker »; si contano due placche a 23 e 22 cromosomi ed in più se ne notano 5 + 1 nel plasma; *g*) tetrade nucleata anormale di « Bäriker » con 6 nuclei; *h*) tetrade di « Curato » con due cellule grandi e due piccole; *i*) tetrade a 5 cellule in « Bäriker »; la cellula sopranumeraria è piccola; *k*) tetradi di « Curato » a 6 cellule (× 1200, da KOBEL, 1931).

Le anomalie riscontrabili nella formazione dei gameti maschili in individui ad alta poliploidia sono solo in parte riferibili ai fenomeni sopra ricordati; si hanno, inoltre, anomalie specifiche di un dato poliploide a seconda della sua origine.

Negli autopoliploidi il numero dei cromosomi non bivalenti, e quindi manovalenti o plurivalenti, è frequente ed elevato. L'orientazione di questi cromosomi nel fuso eterotipico è tale che molto spesso si ha come risultato una irregolare distribuzione numerica del patrimonio cromosomico, per cui molto frequenti sono i casi di sterilità citologica negli autopoliploidi. Secondo Crane si avrebbe, per contro, una maggiore percentuale di fertilità negli allopoliploidi veri nei quali l'appaiamento e la differenziazione dei cromosomi può essere regolare come in un individuo normale diploide.

A titolo di esempio accenniamo alle irregolarità nella microsporogenesi del melo « Stayman » (triploide) riferite da Howlett (1931) e da Cooper (1934, 1936). Nella metafase della divisione eterotipica delle cellule madri del polline, i cromosomi erano disposti in 17-25 gruppi da esavalenti o monovalenti. Tutti i cromosomi di un gruppo mostravano tendenze a restare attaccati e a muovere in gran parte verso un polo e pochi verso l'altro. La divisione omeotipica in questi casi probabilmente porterebbe a due granuli di polline grandi e a due piccoli, di cui questi ultimi probabilmente non vitali. Frequentemente dei cromosomi e particolarmente quelli monovalenti restavano indietro e non erano inclusi in nessuno dei due nuclei figli, ma formavano un terzo nucleo. Il fatto di avere sei invece di quattro granuli di polline da una cellula madre del polline starebbe ad indicare che questo terzo nucleo si divide insieme agli altri due, quantunque il ritrovamento di soli cinque granuli di polline farebbe ritenere che in altri casi la divisione del terzo nucleo non ha avuto luogo. La maggior parte di questi granuli di polline, se non tutti, può risultare sterile. In molti casi si verifica una sola divisione e si ha una coppia, invece della normale tetrade, con più sollecita disintegrazione. Queste irregolarità portano a granuli di polline alcuni grandi ed altri piccoli con vario numero di cromosomi. Si nota una tendenza a comportarsi nello stesso modo in un'alta percentuale di cellule madri di una stessa loggia e, in grado minore, di uno stesso fiore. La deficiente nutrizione e le sfavorevoli condizioni ecologiche sembrano favorire le irregolarità indicate.

L'aspetto esteriore dei granuli pollinici delle varietà triploidi e poliploidi è caratteristico: possono contenere pochissimi cromosomi nel qual caso sono per lo più piccoli, raggrinziti e con scarso o mancante contenuto citoplasmatico, oppure hanno diversi cromosomi soprannumerari ed allora

sono grandi e ricchi di amido. In tutti e due questi casi la percentuale di germinabilità è ridottissima. Il Tischler (1925) riscontrò una anomala « relazione nucleo-plasmatica » nei granuli grandi, cioè uno sfavorevole rapporto fra il volume del nucleo ed il citoplasma, per cui la germinazione sarebbe possibile solo mediante particolari secrezioni enzimatiche. Nei granuli piccoli, il Kobel (1926) riscontrò la mancanza del poro germinativo e non infrequentemente del nucleo.

Riassumendo, le principali anormalità citologiche della formazione del polline sono le seguenti: cromosomi non accoppiati nella diacinesi, cioè cromosomi monovalenti; trivalenti o plurivalenti alla diacinesi; cromosomi in ritardo all'anafase; nuclei intercinetici apparentemente normali, con frammenti di cromosomi; nuclei intercinetici con nuclei soprannumerari; tetrade con maggiore o minore numero di granuli pollinici (polisporia o policaria); contenuto citoplasmatico più o meno abbondante; granuli pollinici imperfetti; granuli pollinici più o meno vuoti o con lievi o accentuate irregolarità, oppure con raggrinzimenti più o meno pronunciati.

b) dell'ovocellula

Per le genesi anormali dell'ovocellula ci riferiremo alle fondamentali osservazioni dell'Howlett (1930) sul melo triploide « Stayman » ed ai rilievi del De Angeli (1939).

Le anormalità nelle razze triploidi si possono riscontrare già prima ancora della differenziazione dell'archesporio; le cellule della nocella e quelle dei tegumenti sono più grosse che nelle razze diploidi; anche l'intero abbozzo dell'apparato seminale risulta più sviluppato che in queste ultime. La differenziazione dell'archesporio consiste nella trasformazione di una delle cellule archesporiali, diploide (cellula madre delle megaspore) in una tetrade di megaspore, ad opera della divisione riduzionale. Durante la prima divisione, mitosi eterotipica, si possono notare accoppiamenti anormali di cromosomi alla diacinesi, alla metafase, alla anafase. Inoltre, taluni cromosomi presentano, alla anafase, un moto rallentato per cui non avviene la loro inclusione nei nuclei figli.

Gli studi citologici dell'Howlett nel melo triploide « Stayman Winesap » hanno posto in evidenza che nella seconda divisione del processo meiotico si ha un rallentato spostamento dei cromosomi sia nel fuso calazale che in quello micropilare, nonchè la mancata inclusione di alcuni dei ritardatari nei nuclei figli. L'autore osservò pure l'occasionale presenza anomala di due fusi nella seconda divisione, presenza di un ulteriore

gruppo cromosomico dopo la seconda divisione con conseguente eventuale presenza di megaspore extra, come pure riscontrò la degenerazione della megaspora più bassa nella vicinanza della calaza, cioè di quella che porta alla formazione del sacco embrionale.

Altre ricerche dell'Howlett (1937) posero in evidenza che la degenerazione del gametofito femminile si può riscontrare anche nelle razze diploidi, oltre che nelle triploidi. Nelle diploidi un totale aborto dei nuclei del sacco embrionale non avviene spesso, se si fa eccezione del « Delicious », mentre nelle triploidi notevole è la frequenza della degenerazione dei gametofiti. L'entità della degenerazione varia sia nell'ambito delle razze triploidi che in quelle diploidi. Così nei meli « Baldwin », « Arkansas » e « Tomskins King », tre razze triploidi, il fenomeno è più frequente nelle due ultime che nella prima, nelle diploidi i casi di degenerazioni del gametofito sarebbero più frequenti nella « Delicious ».

Come è stato rilevato per il polline, anche le anomalie citologiche dell'apparato femminile sono in relazione allo stato nutrizionale dell'albero e con i fattori ambientali avversi, senza escludere la probabile influenza dei fattori ormonici.

IL NORMALE PROCESSO FECONDATIVO

Abbiamo accennato alla maturazione del macro- e del microgametofito, rilevando le anomalie; vediamo ora le fasi normali della impollinazione, della fecondazione e dello sviluppo embrionale, che comprendono le seguenti fasi:

a) deiscenza delle antere ed impollinazione;
b) germinazione del polline sugli stigmi e sviluppo del budello pollinico;
c) fusione dei gameti, doppia fecondazione;
d) sviluppo dell'embrione, endosperma e tegumenti.

Talune di queste fasi come la impollinazione hanno una grande importanza applicativa, per cui ci intratterremo a lungo in seguito per illustrare la parte preponderante che hanno gli insetti pronubi ed in particolare le api. Ma vediamo intanto come si svolge il normale processo fecondativo.

Quando i fiori hanno raggiunto, nei loro organi essenziali, la loro maturità sessuale, essi estrinsecano la loro funzione vessillare per il richiamo dei pronubi. Le antere si aprono ed il polline esce dalle sacche

polliniche. Nel melo si calcola che ogni antera possa emettere da 1800 a 3500 e oltre granuli di polline; l'apertura di essa non è simultanea, anche se è meno asincrona che nelle Drupacee.

Gli stigmi sono gli organi di ricezione del polline in quanto lo ospitano nelle loro sporgenze ed irregolarità, mentre l'adesione è anche favorita da secrezioni vischiose delle papille stigmatiche. Questo liquido vischioso ha origine dal tessuto dello stigma. L'amido di cui erano ripiene le cellule dello stilo si trasforma in zucchero, con la maturità sessuale, in modo che lo stesso tessuto centrale conduttore dello stilo rappresenta un'adatta via nutrizionale.

In questo periodo si verifica anche la nota secrezione zuccherina generalmente alla base del calice: è il nettare o miele per i pronubi.

Nelle Pomacee abbiamo cinque pistilli con 2-6 ovuli ciascuno; gli ovuli hanno il micropilo rivolto verso il basso, in direzione dell'asse fiorale.

Quando il granulo di polline raggiunge lo stigma maturo in condizioni propizie germina, emettendo da uno dei tre pori germinativi il budello pollinico, che dopo poche ore ha forma di tubetto ripieno di plasma denso e bianco-grigio. Il tubetto pollinico penetra nel tessuto dello stilo formato da cellule allungate, ove è nutrito, guidato e stimolato ad ulteriore accrescimento onde raggiungere, « per forza di attrazione » l'ovulo.

Il tempo minimo impiegato per raggiungere l'ovario varia da 8 a 25 ore con le maggiori frequenze sulle 72-96 ore. Nel suo percorso il budello pollinico ha un andamento un po' sinuoso, favorito da stimoli chemio-trofici dovuti ad enzimi particolari che mobilitano le sostanze di riserva di cui vi è dovizia nello stilo. La presenza di amilasi invertina, catalasi, riduttasi, pectinasi e zimasi fu accertata dal Paton (1921) nel « melo siberiano ».

All'inizio dell'accrescimento del tubetto pollinico o poco prima il nucleo generativo si divide in due nuclei spermatici, mentre il nucleo vegetativo migra nell'estroflessione e presiede alle funzioni trofiche.

Quando il budello pollinico ha raggiunto la loggia ovarica, cresce lungo le pareti e penetra (di norma un solo budello) nell'apertura micropilare dell'ovulo.

L'estremità del budello pollinico ora « scoppia » e il contenuto si versa nel gametofito femminile e con esso i nuclei generativi. Sembra che il nucleo vegetativo ed il plasma si mescolino ad una sinergide per poi andar soggetti a degenerazione. Uno dei nuclei spermatici si unisce col nucleo

dell'oosfera, compiendosi la fecondazione vera e propria. In tal modo i due corredi cromosomici, ciascuno con n = 17, di provenienza ♂ e ♀ si uniscono per riformare il numero somatico originario di cromosomi: 2n = 34.

L'altro nucleo spermatico si unisce col nucleo secondario già diploide in quanto deriva dalla fusione del nucleo polare inferiore e del nucleo polare superiore. Avendo, quindi, il nucleo secondario un numero diploide di cromosomi (n = 34), unendosi con il secondo nucleo spermatico, origina un nucleo triploide con 51 cromosomi, che per successive divisioni dà altri nuclei triploidi.

Dalla fusione del primo nucleo spermatico con l'oosfera si origina l'embrione, mentre con la fusione dell'altro nucleo spermatico col nucleo secondario si ha l'endosperma o albume, che avvolge il piccolo embrione. Lo sviluppo dello zigoto è un po' più lento dell'albume che inizia una attiva moltiplicazione cellulare. Si ha prima l'accrescimento dell'albume nella parte inferiore del sacco embrionale che in seguito procede in larghezza nella parte micropilare.

Nel melo e nel pero talvolta non s'inizia lo sviluppo dell'ovulo, che rimane nelle proporzioni originarie. Nelle varietà triploidi in genere e meno frequentemente nelle diploidi lo sviluppo dell'ovulo, in molti casi, s'inizia regolarmente, ma in seguito si arresta; si hanno, infatti, i noti semi vuoti ed infecondi con tegumenti sviluppati.

Nei semi normali l'endosperma viene presto assorbito dall'embrione, che a sua volta immagazzina notevoli quantità di sostanze di riserva.

Le varie fasi di sviluppo dell'embrione e dell'endosperma furono rilevate fin dal 1910 dall'Osterwalder nelle sue ricerche sulla varietà « Böhmischer Rosenapfel », i cui fiori furono impollinati il 10 maggio. Dopo 7 giorni il proembrione era solo bicellulare, in confronto all'endosperma formato già di 8 cellule; dopo altri 21 giorni si avevano, rispettivamente, 16 e 100 cellule. Verso la fine di giugno si aveva la differenziazione del dermatogeno e intorno al 10 luglio gli abbozzi dei cotiledoni seguiti dall'iniziale della cuffia. Dopo oltre 60 giorni dalla fioritura fu identificata la gibbosità incipiente della plumula a cui seguiva il normale processo evolutivo.

La fig. 10 rappresenta stadî di fecondazione e di formazione del seme in meli e in peri.

Merita di essere rilevata la correlazione riscontrata in vari casi tra citologia e torsione dei fusti che risulta essere una caratteristica varietale

già rilevata da B r a u n (1854) e in specie da R. G o e t h e (1888). Questa torsione dei fusti che si rende evidente solo dopo il 30° anno di età ha formato oggetto, specie per il melo, di particolari indagini condotte dal 1943 al 1948 da parte di T r e n k l e (1948), il quale concluse che l e b u o n e v a r i e t à p r o d u t t r i c i d i p o l l i n e (v a r i e t à o c l o n i d i p l o i d i) s o n o t u t t e s i n i s t r o r s e, le cattive produttrici di polline (e cioè le varietà o i cloni triploidi) sono quasi sempre destrorsi.

Il T r e n k l e elencò diverse razze triploidi destrorse e diverse diploidi sinistrorse, rispettivamente cattive e buone produttrici di polline.

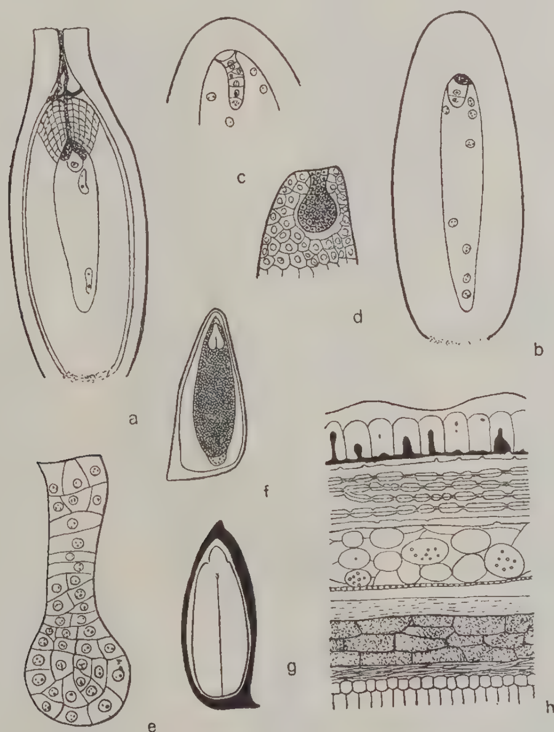


FIG. 10. – La fecondazione e la formazione del seme nei meli e nei peri; *a*) la penetrazione attraverso al micropilo del budello pollinico. Le sinergidi sono disintegrate; *b*) ovocellula fecondata e primi nuclei endospermatici; *c*) giovane embrione pluricellulare e nuclei endospermatici; *d*) giovane embrione avvolto dall'endosperma; *e*) giovane embrione a maggiore ingrandimento; *f*) embrione più sviluppato avvolto dall'endosperma; *g*) seme maturo: l'embrione ha consumato l'endosperma; *h*) sezione trasversale del tegumento seminale e membrana con le particolarità dei diversi strati (da OSTERWALDER).

Le anomalie del processo fecondativo con particolare riguardo allo zigoto

Semi « vuoti ». — Le ricerche di vari autori ed in particolare quelle di Kobel, Steinegger e Anliker (1939) hanno posto in evidenza l'anormale processo fecondativo con particolare riguardo al decorso del tubetto pollinico nel tessuto dello stilo. Allorchè il granulo di polline aploide perviene sullo stigma di una razza triploide il budello pollinico cresce nel tessuto stilare e dell'ovario regolarmente fino all'atto della fecondazione. Nella fusione del nucleo spermatico del budello pollinico avente n cromosomi e la cellula-ovo avente un numero superiore di cromosomi $n + x$, si possono verificare dei disturbi più o meno notevoli o anche degenerazioni di rilievo, con conseguente mancata divisione della cellula-ovo fecondata e del nucleo endospermatico, oppure il proembrione non si sviluppa, mentre si accresce l'endosperma o viceversa. Anche in certi casi di apparente normalità dello sviluppo dello zigoto e del nucleo endospermatico si ha un più o meno precoce deperimento dell'embrione e dell'endosperma, mentre in altri casi, quando si mantengono vitali, sono caratterizzati da uno sviluppo più rallentato.

Crane e Lawrence (1929) posero in evidenza che non infrequentemente bassa può essere la percentuale dei frutti allegati e portati alla maturazione. Kobel (1926, 1927, 1930) dimostrò che realmente nelle razze triploidi si aveva un numero molto più alto di semi « vuoti » o « muti » ed anche quei semi che sono provvisti di embrione sono molto più disuguali di forma e grandezza di quei semi derivanti da varietà diploidi. Nelle razze triploidi si ha generalmente dal 30 al 50 % di semi « vuoti » e imperfetti, mentre nelle razze diploidi difficilmente si supera il 10 %. Ne consegue che già da un primo esame dei semi dei frutti si può conoscere con una certa approssimazione il numero cromosomico delle razze.

Talvolta questi semi « vuoti », rudimentali, sono rappresentati dai soli tegumenti seminali senza traccia di embrione; essi sono lunghi o raggrinziti, o stretti e vuoti. Questi semi rudimentali si riscontrano tanto nelle razze diploidi che in quelle triploidi. In queste ultime i semi « vuoti » derivati da fecondazione anomala sono un po' più larghi di quelli dei resti seminali già ricordati e contengono anche residui di embrione.

Le anomalie delle razze triploidi derivanti da anormalità citologiche nella genesi dei semi non hanno importanza dal punto di vista dello sviluppo dei frutti, che avviene bene anche con la presenza di pochi semi, mentre esse sono di notevole rilievo per le applicazioni sia per quanto



FIG. 11. – Sezione longitudinale dell'ovario di « Delicious » a 4 giorni dalla caduta dei petali. Sono evidenti le diverse particolarità (× 28).

riguarda il loro polline poco germinabile e in genere scarso, sia per la bassa percentuale di germinabilità dei semi che per il modesto sviluppo delle piantine, ciò che deve indurre i vivaisti a scartarli per la produzione di soggetti d'innesto.

Fin dal 1924 Dahl e Johansson posero in evidenza la bassa percentuale di germinazione dei semi delle razze triploidi (da 31 a 47 %) in confronto a quelli delle razze diploidi (da 70 a 87 %); essi, peraltro, non scartarono quelli che dall'aspetto esteriore non risultavano adatti alla germinazione. Successivamente Crane e Lawrence (1930) misero in evidenza non solo la ridotta germinabilità dei semi derivanti da combinazioni di diploidi × triploidi, ma soprattutto la molto scarsa « forza vitale » dei semenzali e il modesto sviluppo delle piantine, che avevano un'altezza di circa 1/3 di quelle derivate da combinazioni di diploidi × diploidi.

Osservazioni sulla germinazione e sullo sviluppo delle piantine derivate da diverse combinazioni di incrocio

Nel nostro programma di ricerche nella frutticoltura del Ferrarese abbiamo fatto numerose osservazioni anche sulla germinazione dei semi e sullo sviluppo delle piantine di oltre 50 gruppi di fecondazioni i cui risultati si riporteranno in altra pubblicazione.

L'IMPOLLINAZIONE E GLI INSETTI PRONUBI

L'indispensabile ausilio delle api

Allorchè le antere si aprono ed il polline esce dalle sacche, è necessario che esso pervenga sullo stigma. Sono state condotte molte ricerche ed osservazioni sulla modalità della impollinazione. In ogni caso è stato posto in evidenza che l'impollinazione anemofila nelle piante da frutto è di trascurabile entità e che essa è prevalentemente entomofila.

Branscheidt nel Palatinato e poi anche Rudloff e Schanderl (1950) come riferiscono nell'accennata opera riassuntiva, misero in evidenza che il vento può trasportare per certi tratti il polline e contribuire così all'impollinazione del ciliegio.

In zone sufficientemente ventilate e con ciliegi posti alla distanza di 6-7 metri, aventi chiome ben ramificate, è possibile una reciproca fecondazione delle razze, come riscontrarono i suddetti autori. Occorre, naturalmente, negli impianti, considerare la prevalente direzione dei venti per trar profitto anche dall'ausilio dell'impollinazione anemofila nelle Drupacee; ma essa è sempre di modesta entità e non bisogna mai sopravalutare questo ausilio del vento. In ogni caso di gran lunga più importante è la fecondazione entomofila.

L'ausilio del vento, come agente vettore del polline, è quasi del tutto trascurabile nelle Pomacee, se si fa eccezione dei filari molto fitti e con rami che si compenetrano. Occorre considerare che i rami delle Pomacee vengono meno bene scossi dal vento ed i corimbi sono spesso poco sporgenti; inoltre, il polline è meno adatto ad essere trasportato dal vento.

L'impollinazione delle Pomacee è, dunque, necessariamente legata agli insetti pronubi.

Nelle sue osservazioni Hooper (1913) riscontrò la seguente composizione tra le varie specie di insetti: api da alveari 493, *Bombus* sp. 49, mosche, formiche 23, Coleotteri 22, « api selvatiche » 16, vespe 3, altri insetti 13. L'ape, dunque, già da questi primi dati, è in grande preminenza, come anche conferma Zander (1921, 1924, 1930). Branscheidt (1929) indicò che l'*Apis mellifica* partecipa nella elevata percentuale del 75 % nell'impollinazione delle piante da frutto. Anche Zederbauer (1936) riscontrò una percentuale del 75 % per le api, ed il rimanente 25 % per vespe, Ditteri, Coleotteri, formiche, *Bombus terrestris* e *B. lapidarius*.

Osservazioni particolari di alcuni autori lasciarono intravedere che anche altri insetti possono avere una parte preponderante nella impolli-



FIG. 12. - Melo « Stayman Winesap » di 14 anni in piena fioritura

nazione. Nella Germania settentrionale lo Speyer (1929) pose in evidenza la larga parte che aveva l'*Eristalis*, mentre Sax (1922) e Sachoff (1929) attribuirono l'impollinazione ai bombi che sono in attività anche nelle ore serali e con temperature basse.

Effettivamente, in certe zone, ed in condizioni di notevole limitazione delle attività delle api o in assenza di queste, altri insetti pronubi assumono maggiore importanza. Secondo quanto affermano H. D. Hootman, segretario della Società di Orticoltura del Michigan, e G. H. Cale, dell'« American Bee Journal », i piccoli frutteti, situati vicini ai boschi o pantani, dove svernano insetti in gran numero, presentano di solito buona allegagione senza le api. Ma, nella generalità dei casi, l'insetto pronubo

regale ed universale, dall'attività prodigiosa e incomparabilmente più utile nell'impollinazione è l'*A. mellifica*. Essa non solo non ha eguali come agente di impollinazione, ma è l'insetto controllato prontamente dall'uomo. L'ape svolge una notevole attività bottinatrice ed ha una particolare conformazione per cui può visitare parecchi fiori; essa è provvista di apparato estroflettibile mediante il quale sugge il nettare. Vi è una divisione nell'attività delle api bottinatrici: alcune raccolgono solo il polline, altre soltanto il nettare ed ognuna dà la sua attività col proprio compito. La raccolta del polline viene compiuta con movimenti rapidissimi, appena percettibili ad occhio nudo.

Allo studio della meravigliosa vita delle api ha dedicato molti anni Carlo V. Frisch, biologo di fama mondiale, docente di zoologia all'Università di Monaco, la cui opera è stata recentemente tradotta in italiano (1951). Quest'autore dimostrò per primo che le api non sono affatto cieche ai colori, ma hanno la possibilità di percepirli, sia pure in grado diverso da quello dell'uomo; egli afferma pure che sarebbe possibile « educare » le api a raccogliere il bottino in base ad un determinato colore. Questi insetti hanno una capacità di orientamento al di fuori dell'alveare, mentre un particolare « linguaggio » consente loro di indicare ove trovasi con esattezza il bottino. Il Frisch descrive la singolare danza circolare come mezzo di orientamento, mentre il particolare profumo dei fiori ha pure una grande importanza.

I colori dei fiori sono fatti per l'occhio dei « pronubi », scrive il Frisch. Tutti i fiori bianchi filtrano i raggi ultravioletti a breve lunghezza d'onda della luce solare, condizione che passa inosservata al nostro occhio. I fiori bianchi, quindi, sono percepiti dall'occhio dell'ape nel colore complementare dell'ultravioletto, ossia come se avessero color verde-bluastro.

« Non dobbiamo rimproverare le api di raccogliere sui fiori il miele ed il polline, poichè le piante offrono loro queste sostanze nutritizie per loro vantaggio » ... « Se non vi fossero le api, non soltanto le nostre piante da frutto, ma anche il trifoglio, il grano saraceno, le fave, i cetrioli, il mirtillo, il mirtillo rosso, e moltissimi fiori pratensi non produrrebbero più alcun frutto o ne produrrebbero molto pochi ».

Come già dimostrò lo stesso Frisch, la caratteristica più importante e più preziosa nelle api è la cosidetta costanza fiorale (« Blutenstetigkeit »). Esse sono « fedeli », in generale, ad un certo tipo di polline; se visitano i fiori di melo, esse rimangono in attività fedele fin quasi a fine fioritura di questa specie. Questa « specializzazione » consente la impollinazione sicura delle razze che vengono visitate successivamente o alternativamente, a seconda della ubicazione degli alberi. Tuttavia, recenti ricerche condotte



Fig. 13. – Particolare dei corimbi di « Staymared ».

negli Stati Uniti d'America hanno posto in evidenza che le api possono preferire, nella loro attività bottinatrice quotidiana, i fiori di una razza nelle prime ore di attività e successivamente quella di altre, ponendo nuovi problemi nella scelta delle razze da consociare. Per la loro importanza riportiamo dai *Proceedings of the Washington State Horticultural Association* le principali deduzioni delle ricerche di Overley, O'Neill, Paige e Brown.

L'importanza delle api nella impollinazione dei fruttiferi non è mai stata posta in dubbio, nè alcuno dubita che la loro efficacia dipende molto dalle condizioni climatiche. Si aggiunga che le api non hanno motivo di preferire i fiori dei fruttiferi a quelli delle altre piante e che spesso i fiori

delle varietà che maggiormente necessitano della loro opera sono per le api i meno attraenti.

Questi esperimenti furono iniziati ed effettuati alla Stazione sperimentale di Washington, reparto di frutticoltura, nel 1946 con il preciso scopo di ottenere nozioni sul modo di impiegare le api da fornire agli agricoltori, affinchè potessero ottenere i massimi risultati nella impollinazione. I punti studiati furono i seguenti:

1) La distribuzione degli alveari nel frutteto; 2) utilità dei dispositivi con polline all'apertura dell'alveare per la distribuzione artificiale del polline raccolto; 3) varietà di meli visitate dalle api; 4) ore del giorno in cui le api visitano i fiori; 5) condizioni dei fiori visitati dalle api; 6) produzione di polline di alcune varietà di melo; 7) preferenza delle api per alcune varietà di melo; 8) numero relativo di portatrici di polline e di nettare in un alveare; 9) utilità di riunire gli alveari oppure di disporli isolatamente nel frutteto; 10) vitalità del polline portato dalle api nell'alveare.

Le ricerche furono effettuate durante il periodo di fioritura dei meli dal 24 aprile al 4 maggio 1946.

Furono collocate delle padelle contenenti del polline all'ingresso degli alveari per favorirne la disseminazione. Ma per i primi 30 minuti dopo che erano state messe le padelle all'ingresso degli alveari, una notevole confusione regnava fra le api. Durante i 4 giorni di durata dell'esperimento l'alveare di controllo senza le padelle presentava un'attività delle api notevolmente maggiore rispetto agli altri due. Ma verso la fine dei quattro giorni la differenza di attività si era notevolmente ridotta. Negli alveari muniti del dispositivo con polline si è osservato che molte delle api cercavano una via di uscita diversa da quella normale in modo che dall'esame delle api uscite risultava che poco polline era attaccato al loro corpo. L'utilità dei dispositivi esperimentati, in questa prova, è pertanto dubbia.

Varietà di melo visitate dalle api. — Le varietà di melo visitate dalle api al momento della loro maggiore attività furono studiate osservando l'attività delle api in gruppi di « Delicious », « Jonathan », e « Winesap ». Tutte le razze erano vicine le une alle altre e pressapoco alla stessa distanza dagli alveari. Si è osservato che le api visitavano i fiori di « Delicious » e di « Jonathan » appena cominciavano ad aprirsi e continuavano a visitare le piante fino a che la fioritura era praticamente finita. È interessante notare che le api visitavano sempre i fiori di « Delicious » per primi al mattino, preferendoli a quelli della « Jonathan » e della « Winesap » e continuavano a lavorare su di essi fino a circa mezzogiorno. Nel pomeriggio l'attività sui « Delicious » rallentava mentre au-



Fig. 14. – L'ape, prezioso insetto pronubo, su un fiore di « Staymared »



Fig. 15. – Un'ape sta per posarsi su un fiore di « Imperatore ».

mentava sui fiori di « Jonathan ». Alle ore 16 l'attività sui « Delicious » era praticamente cessata, mentre proseguiva nella « Jonathan » fino alla fine della giornata. L'attività delle api sulla « Winesap » era molto scarsa fino a che le piante non erano in piena fioritura; essa si esplicava per la maggior parte nel tardo pomeriggio ed alla sera. Questo può essere dovuto al fatto che le api sembravano preferire la « Delicious ». La « Delicious » e la « Jonathan » sono ottime impollinatrici per la « Winesap ». La « Jonathan » non sembra poter essere la migliore impollinatrice per la « Delicious », perchè le api vanno prima sulla « Delicious » e lavorano sulla « Jonathan » più tardi nella giornata. Sono necessarie ulteriori ricerche per individuare varietà impollinatrici per la « Delicious » da innestare o da piantare vicino; varietà che siano ugualmente gradite alle api. Spesso una scarsa allegagione nella « Delicious » si verifica anche se sono presenti varietà ritenute buone impollinatrici e sono state portate nel frutteto le api.

La « Jonathan » e la « Delicious » produssero abbondante polline, la « Winesap » poco. Le varietà che produssero più polline erano anche quelle il cui polline fu portato agli alveari in maggiore quantità. Sulle « Winesap » sembrava che le api si occupassero più di raccogliere nettare che di raccogliere polline.

Fu effettuato uno studio allo scopo di determinare quante api portavano nettare e quante polline. Nelle mattine il 78,7 % delle api portava polline e il 21,6 % nettare. Nei pomeriggi il numero delle portatrici di nettare aumentava fino al 28,3 %, mentre le portatrici di polline si riducevano al 71,7 %.

Per qualche ragione di cui non si dà spiegazione e in condizioni pressochè identiche, si verificò un numero maggiore di portatrici di nettare il 28 aprile rispetto al 27. I conti furono fatti negli stessi due alveari pressapoco alla stessa ora nei due giorni e solo 26 api in più entrarono negli alveari il giorno 28. Il giorno 28 le api lavorarono fino alle 16,45, allorchè cominciò a piovere abbastanza forte. Il giorno 29 dalle ore 12 risultò evidente che il nettare nei fiori veniva essiccato dal vento. L'attività delle api si ridusse fra mezzogiorno ed il tocco e cessò del tutto prima delle 17,30, mentre, in simili condizioni di clima, il giorno 27 le api avevano lavorato fino alle 18,45. Il nettare apparì di nuovo nei fiori il giorno 30, allorchè le api furono di nuovo in pieno lavoro dalle 9,30. Ulteriori notizie sono necessarie in merito alle condizioni che influiscono sulla produzione del nettare e sul contenuto zuccherino.

Nei frutteti del Michigan sono stati recentemente introdotti (Kremer, 1948) dei dispositivi per raccogliere e distribuire il polline in modo da agevolare l'allegagione. Si tratta di un nuovo metodo per distribuire il polline in gruppi di piante di una sola varietà che presenta

difficoltà di allegagione. Con questo metodo vengono utilizzati « grumi » di polline raccolti dalle api, in sostituzione del costoso e faticoso metodo della impollinazione a mano. Schematicamente la procedura è la seguente: quando l'ape ritorna dal frutteto i grumi di polline sono asportati dalle sue zampe mentre l'insetto passa attraverso una rete all'imbocco dell'alveare. Il polline, in queste condizioni, non è adatto ad essere impiegato e viene quindi ridotto in forma polverulenta (« fluffy ») mediante l'aggiunta di un diluente (spore di licopodio), e sfregandolo dolcemente con la mano fino a che i piccoli grumi di polline non si sono « sbriciolati ». Essendo le spore asciutte, impediscono ai granuli umidi del polline di aderire l'uno all'altro in modo che si ha un miscuglio in forma adatta per la distribuzione. Allorchè l'ape lascia l'alveare per tornare nel frutteto viene obbligata a passare attraverso questo materiale: il movimento delle ali dell'insetto fa poi in modo che la polvere venga distribuita uniformemente sopra tutto il suo corpo.

La vitalità del polline raccolto con questo sistema può essere stata influenzata da vari fattori sfavorevoli che ne compromettono l'impiego. Così ad esempio si è pensato che il polline, essendo raccolto dall'ape e non dalle mani dell'uomo, può non essere vitale e quindi inutile per l'impollinazione. Casteel parla di aggiunta di nettare da parte dell'ape nella formazione del grumo di polline. Comunque, essendo il polline dei fruttiferi ceroso e attaccaticcio, esso aderisce facilmente ai peli dell'insetto e si trasforma con facilità in grumi sulle zampe posteriori. Si potrebbe supporre che se il nettare fosse aggiunto in questa fase in notevoli quantità l'ape sarebbe capace di trattenere anche polline secco o trasportato dal vento, il che non è vero. Overley e O'Neill citano le osservazioni di Bullock nella Stazione sperimentale di Frutticoltura di Washington il quale parla di 97 % di germinazione in soluzione zuccherina al 10 % in 24 ore e di nessuna germinazione dopo 24 giorni.

Questa modalità di distribuzione del polline non ha dato, però, buoni risultati nelle predette ricerche di Overley, O'Neill, Page e Brown, sia pure con varianti diverse.

La particolare attitudine delle api a raccogliere il polline fu posta in evidenza anche da Zander (1930), il quale rilevò che questa peculiare attività è dovuta al fatto che svernando le api in colonie popolose hanno un numero elevato di operaie all'epoca della fioritura, distinguendosi dai bombi, vespe, ecc., che si notano in numero relativamente ridotto in questo periodo; inoltre, per la particolare posizione con la quale raccolgono il polline, risulta che la loro « peluria », all'atto di abbandonare il fiore, è notevolmente ricca di granelli pollinici.

Le api visitano un gran numero di fiori. Secondo lo Zander si può calcolare che una singola ape visiti come minimo 720 fiori, con una media di 72 fiori in 10 sortite. E poichè una colonia può avere molte migliaia di api, si può facilmente immaginare quale numero imponente di fiori esse visitino. Il Mertens, ad esempio, ha calcolato che vi siano in un alveare, al momento della fioritura, circa 10.000 api destinate al volo; tenuto presente che in condizioni favorevoli un'ape visita fino a 10 fiori al minuto, in 10 minuti può visitare fino a 100 fiori. In una giornata di bel tempo, calcolando 40 sortite, si hanno visite a 4000 fiori con un totale di 40.000.000 di fiori per l'intera colonia in un giorno favorevole. Ogni fiore, poi, può produrre, con le sue antere, da 50 a 80 mila granuli pollinici circa; e ogni ape può trasportare una notevole quantità di granuli, superando facilmente i 70 fino a 100 mila ed oltre. Sono queste cifre notevoli che fanno meditare sulla meravigliosa, benefica attività delle api.

Tuttavia è noto che l'attività delle api può essere notevolmente ostacolata o ridursi al minimo fino a cessare del tutto. Già il Parker, nelle vicinanze di Ames (Iowa), pose in evidenza che il polline era a disposizione delle api dalle ore 9 del mattino alle 18 del pomeriggio; le api possono svolgere la loro attività durante gran parte della giornata, essendo le condizioni ideali rappresentate da giornate calme, chiare e calde. Quando il cielo è nuvoloso o spira vento, oppure fa freddo o piove le api non volano, o riducono al minimo la loro attività quantunque esse approfittino di ogni momento propizio.

La temperatura, la velocità del vento e le precipitazioni sono i fattori che influiscono maggiormente sull'attività delle api, che aumenta con l'aumentare della temperatura da 8° C (attività quasi nulla) a circa 28°-30° C; l'attività si accresce notevolmente a 14°-16° C, tanto che il periodo di attività risulta già cospicuo; il massimo viene raggiunto a 20°-22° C. Interessanti sono anche i rilievi di Woodrow (1933) e Phillips (1930).

Gli entomologi considerano la temperatura di 13,5-14° C come limite per l'inizio di una proficua attività impollinatrice da parte delle api.

I forti venti ostacolano fino ad impedire il volo delle api: già ad una velocità di km 3-4 orari i venti determinano una lievissima minore attività delle api, che si riduce notevolmente a circa km 20 e cessa a circa 35-40 km. Anche le precipitazioni arrestano il volo dei preziosi imenotteri, che possono, peraltro, riprendere quando cessa la pioggia anche in condizioni di notevole umidità, entro certi limiti.

Dato che alcuni di questi fattori negativi possono verificarsi e limitare il raggio di azione delle api, è bene che gli alveari siano collocati in più posti in un grande frutteto, in posizione riparata.

Le api, nello svolgere la loro attività, compiono voli gradatamente sempre più ampi fino a raggiungere un massimo di km 3, che raramente oltrepassano, ma spesso arrivano con fatica ad un km.

Nei periodi piuttosto freddi (7°-14° C), che si verificano durante la fioritura, riducono il raggio di azione a soli 50-70 m dall'alveare. Perciò è stato più volte consigliato, dagli autori americani, nei grandi frutteti, gli alveari ad una distanza di 70-90 m l'uno dall'altro, in tutte le direzioni.

Kobel e Sachoff (1929) posero in evidenza che la distanza dei voli è influenzata oltre che dai venti, ecc. anche dalle condizioni topografiche (colline, ostacoli vari). Tuttavia si può calcolare che facendo assegnamento sulle belle giornate va bene una distanza di 700-900 metri; questa peraltro non è sempre da consigliarsi essendo molteplici i fattori che la riducono. È preferibile quindi collocare gli alveari in modo che il raggio non superi possibilmente i 90 metri, che dovranno ridursi quando vi sono muri molto alti, caseggiati o alberi molto alti e folti. Non è necessario, come rileva anche Snyder (1946) distribuire isolatamente gli alveari; si ha un risultato più proficuo riunendo a gruppi di 2-4 fino a 8-10 gli alveari nelle posizioni più calde e riparate. Naturalmente ciò è in relazione all'ampiezza e forma del frutteto, in rapporto alle distanze, ecc.

L'esperienza dei frutticoltori americani portò a consigliare un alveare per uno o anche due acri (mq 4046). Così Hooper (1912) riferì l'opinione di tecnici australiani che consigliavano 1 alveare ogni acro e quella di Herrod, segretario della Società degli Apicoltori inglesi, che consigliava 40 alveari per 160 acri di frutteto. Il Florin consigliò 3-5 alveari per ettaro, Zander 1-3 per ettaro, Auchter 2 per ettaro, Snyder (1946) 1 alveare (con circa 75.000 api al momento della fioritura del melo) ogni 2 acri.

Per le nostre condizioni d'ambiente consigliamo due alveari per ettaro di frutteto; anche se la promiscuità delle nostre colture può in certo qual modo ridurre, entro certi limiti e in condizioni favorevoli la presenza di colonie numerose di api, è da rilevare che le frequenti avverse condizioni d'ambiente giustificano il predetto numero di due alveari per ettaro.

Negli Stati Uniti d'America, come già abbiamo detto, data la grande estensione di superficie occupata da una o da poche razze, la presenza delle api è diventata una norma colturale, seguìta anche nelle aree minori. Eguale importanza si dà alle api nei vari altri Paesi europei e anche da noi è diffusa e si diffonderà sempre più la pratica — assolutamente indispensabile — dell'allevamento delle api nel frutteto. Il binomio apicoltura-frutticoltura è uno dei presupposti della nuova coltura industriale dei fruttiferi.

Nelle grandi estensioni a frutticoltura del Nord-America si usa spostare, nel periodo della fioritura, gigantesche colonie di api, in proporzione di un alveare per acro. Il frutticoltore prende accordi con un apicoltore e affitta da lui un certo numero di alveari; spesso un accordo del genere può essere fatto in cooperativa fra vari frutticoltori e l'apicoltore.

Nelle contee di Oceana e Berrien (Michigan), ad intensa frutticoltura, fu proposto di costituire un'associazione e di nominare un sorvegliante delle api nei frutteti. Il prezzo dell'affitto varia. Nella Nuova Jersey, dove la pratica è frequente, il prezzo dell'affitto corrente è di 5-6 dollari per alveare, compreso il lavoro del sorvegliante; altrove si indica il prezzo di 3-4 dollari per alveare ogni 4 settimane.

Negli Stati centro-settentrionali del Nord-America è stato consigliato l'acquisto delle api negli Stati del sud, ordinandole assai per tempo. Gli apicoltori del sud hanno una particolare esperienza anche nella spedizione delle api con pacchi-espresso di 2-3 libbre. Quando esse arrivano a destinazione si sistemano in nuovi alveari in modo che possono dare colonie di sufficiente grandezza per le impollinazioni nel periodo della fioritura. Il prezzo delle colonie complete veniva indicato in 10-15 dollari; il pacco postale espresso poteva essere ottenuto con una spesa di 4-5 dollari.

Naturalmente, il numero degli alveari per unità di superficie è anche in relazione al numero delle api per ogni colonia. Si consiglia di fornire nutrimento alle api alla fine dell'inverno, in modo che si abbia un rapido aumento nel numero delle api nel periodo della fioritura.

Vitalità del polline e tipo di polline raccolto dalle api. — Dalle api mentre stavano per entrare nell'alveare fu prelevato del polline che venne poi esaminato. Risultò essere puro polline di melo. Non fu mai osservato alcun altro polline, allorchè le api lavoravano sui meli. Il polline raccolto dalle api era riunito in grossi grumi che sembrava stessero insieme grazie ad una sostanza simile al nettare. Prove di germinazione furono effettuate da R. M. Bullock, il quale ottenne una germinazione del 97 % in una soluzione zuccherina al 10 % a 21°,2 C dopo 24 ore dalla raccolta. Dopo 12 ore il polline conservato a 1°,1 C presentò una germinazione del 4 % che si ridusse a 0 dopo 14 giorni. Questo deterioramento del polline può essere causato dalla sostanza simile al nettare che vi era mescolata. Sarebbe impossibile usare il polline raccolto dalle api per impollinare, senza prima trattarlo in modo da « rompere » i grumi in singoli granuli di polline da usarsi, con un pennellino, sotto forma di polvere.

A conclusione delle considerazioni sull'importanza delle api sull'impollinazione, è necessario affermare nel modo più esplicito che si deve avere ogni cura per evitare assolutamente di trattare i fruttiferi con fitofarmaci venefici per le api quando gli alberi fruttiferi sono in fioritura. Sarebbe un vero... delitto, un danno maggiore di una gelata.

Taluni trattamenti in fioritura possono poi essere dannosi anche per il polline e gli stigmi; quando sono necessari si può far ricorso a sostanze repulsive per le api come: legno quassio, composti nicotinici, ecc.; i trattamenti nelle ore serali sono meno dannosi alle api.

Ricordiamo, infine, che l'opinione di taluni pratici, secondo la quale le api sarebbero capaci di perforare i frutti è falsa. L'apparato boccale delle api non è in grado di perforare nessuno dei nostri frutti. Quando si osservano le api che « succhiano » i succhi dei frutti, vuol dire che i frutti stessi erano stati perforati in precedenza da uccelli od altri insetti (vespe, ecc.). Le api sono attratte da questi succhi, ma non sono la causa prima del danno.

L'impollinazione artificiale

In alcune zone degli Stati Uniti d'America, come nello Stato di Washington, l'impollinazione artificiale su « basi commerciali » fu iniziata circa 20 anni fa.

Alcuni tecnici furono indotti a tale intervento artificiale dal fatto che l'impollinazione « naturale » (a mezzo dei pronubi) è insufficiente. Si può dire che la pratica si è diffusa in seguito alla constatazione dei notevoli incrementi produttivi che si ottenevano.

Questa pratica è più comunemente adottata per il melo, benchè si siano avute diverse applicazioni anche per il pero, per i ciliegi dolci e per il susino.

Il periodo nel quale si può effettuare l'impollinazione è breve. Il polline dev'essere raccolto asciutto e distribuito in pochi giorni a mano. Ci si serve di mano d'opera a buon mercato: ragazzi e giovani. Il polline viene raccolto in recipienti di vetro e con pennelli si applica sugli stigmi per lo più del fiore centrale o di quello più adatto per ogni corimbo, al fine di evitare una eccessiva allegagione. Alcuni usano una matita con un'appendice di gomma, oppure il dito indice della mano per l'impollinazione; dopo una esperienza di alcuni lustri, la maggior parte dei frutticoltori usa il pennello di crine.

In generale il polline viene immesso in un vasetto cilindrico a larga bocca, che si richiude quando non si usa; la bottiglia si attacca con adatta

cinghietta al taschino o si sostiene in altro modo per avere tutte e due le mani libere. Con la pratica si acquista una notevole abilità, in modo da impollinare rapidamente gli stigmi; alcuni si avvicinano prima ai fiori per maggior precisione. Ogni immersione del pennello nel polline può servire per 6-8 fiori.



FIG. 16. -- La fecondazione artificiale procede speditamente con personale addestrato. Nella foto il per. ort. A. Frilli preleva il polline da un corimbo precedentemente isolato per la fecondazione incrociata (Frutteto Fondazione Navarra, Ferrara).

Come riferisce Snyder (1946), se la mano d'opera è scarsa, può essere conveniente impollinare solo la parte della chioma a Nord o più esposta al vento. Gli insetti possono diffondere in parte il polline portato artificialmente sui fiori. Teoricamente converrebbe, se l'azione degli insetti si presume di scarso rilievo o nulla per cause varie, impollinare tanti fiori quanti sono i frutti che si desidera avere sulle piante. Lo Snyder

stesso conferma che l'impollinazione di un fiore per ogni corimbo è la pratica più consigliabile.

Nel New Hampshire è stato dimostrato che forti piogge sopravvenute dopo l'impollinazione artificiale in meli « McIntosh » non hanno causato molti danni per l'entità della allegagione; ma un tecnico ha rilevato nessun incremento della impollinazione a mano nello Stato di Washington su meli « Delicious » in seguito a pioggie sopravvenute dopo l'operazione.

L'impollinazione a mano è una operazione molto costosa, che nei calcoli fatti, ha importato una spesa di circa 45-60 dollari per acro. Ma si sono avute applicazioni fino a 500-700 ettari, data l'importanza della pratica.

Sono state compiute prove anche con mantici per espandere il polline sui fiori, ma a causa del disperdimento di notevoli quantità di polline e per eccessiva allegagione non si è affermato. Come pure l'impiego di soluzioni acquose zuccherate da irrorare sui fiori non ha dato buoni risultati.

Un metodo che ha avuto successo, dopo i positivi risultati ottenuti nella zona di Chelan-Okanogan (Washington), è quello del cosidetto « pole duster »; esso consente una notevole rapidità di lavoro.

Recentemente, anzi, M. Bullock e F. L. Overley e M. Bullock e J. Snyder hanno riferito su esperimenti con aeroplani e bombe per la diffusione del polline in notevoli estensioni di frutteti in fioritura. Particolare attenzione è stata rivolta all'accertamento delle percentuali di allegagioni ottenute con questi metodi eccezionali e alla germinazione, raccolta e conservazione del polline.

Gli autori riferiscono che molti frutticoltori considerano l'impollinazione artificiale predetta come una « assicurazione » e la completano con le api ed i rami e le branche fiorite disposte in adatti recipienti; tuttavia altri ritengono che queste pratiche siano troppo costose. Secondo Overley e Bullock, quando allega il 3-5 % dei fiori in una annata di abbondante fioritura si ha un buon raccolto nel melo.

Prove di impollinazione con l'aeroplano e con dispositivi esplosivi. — Numerosi frutticoltori hanno fatto ricorso nell'ultimo lustro all'aereo per l'impollinazione dei loro frutteti negli Stati Uniti d'America. Il polline, nelle varie prove, veniva diluito con una polvere inerte, poco costosa e sparso sulle piante.

In prove rigorose con applicazioni di sacchi di garza fitta nei controlli non si ebbe alcun risultato nel « Delicious », e di poco significato

anche nella « Winesap ». Ne consegue che il metodo non è per ora consigliabile.

In altre prove furono adottate anche le cosidette bombe composte da un pesante cilindro di cartone ripieno di polline, con carica esplosiva alla base. La bomba viene posta sotto l'albero e fatta esplodere. I risultati posero in evidenza che non si aveva alcun incremento di allegagione nella « Delicious », nella « Winesap » e nel ciliegio « Bing ».

Di fronte a questi risultati nulli o quasi, si pensò di indagare sulla germinabilità del polline e sulla sua dispersione con questi due singolari metodi di impollinazione artificiale. Per determinare la germinabilità furono poste delle lastre in scatole Petri aperte con soluzione di saccarosio al 10 % ; le scatole stesse venivano poste sulle piante e sotto alle chiome, mentre poi venivano chiuse e portate in laboratorio per la determinazione della germinabilità. Anche per avere elementi sull'entità della diffusione del polline, si attaccarono delle lastre spalmate con olio in vari punti delle piante. Dai risultati si rilevò che, mentre la germinazione del polline diffuso con l'aereo era eccellente, era molto ridotta quella del polline diffuso con l'esplosivo. Nei due casi la diffusione del polline fu buona come risultò dai granelli che aderirono alle lastre di saggio.

Questi ed altri metodi sono del tutto nella fase sperimentale; fino ad oggi il risultato positivo, indiscusso, è quello ottenuto con l'impollinazione a mano.

Raccolta e trattamento del polline. — Per l'impollinazione artificiale a mano o con altri dispositivi, occorre disporre di notevoli quantità di polline.

Il polline deve essere prelevato da razze adatte, che saranno elencate in seguito.

Se si attende che le antere siano aperte per effettuare la raccolta, una certa quantità di polline va perduta. Bisogna iniziare la raccolta appena si inizia l'apertura di qualche antera ed i petali si sono un po' scostati e stanno per aprirsi. Con una temperatura elevata le antere si aprono rapidamente.

Tra i vari metodi consigliati per la raccolta dei fiori uno dei migliori consiste nel cogliere i corimbi, che si ripongono in un recipiente a larga imboccatura attaccato alla cintura; in tal modo i fiori si mantengono freschi fino al loro trasporto nei locali adatti. Si possono tagliare anche i rami con vari corimbi, specie, se non si è eseguita la potatura invernale; questa modalità comporta peraltro un certo indebolimento dell'albero data la potatura tardiva.

Per il distacco delle antere si usa una reticella metallica a maglie fitte che si pone sul recipiente usato per raccogliere il polline. Il peduncolo fiorale viene preso fra il pollice e l'indice e si piega una o due volte contro la rete in modo che si distacchino le antere, che si ammassano nel recipiente. Quindi si distende il tutto su vassoi in strati non superiori ai 3 mm e si tiene per 48 ore a circa 20°-21° C. Si devono evitare temperature maggiori ed il contatto diretto dei raggi solari, mentre giovano le condizioni normali di aereazione ed umidità di una comune abitazione.

In un paio di giorni buona parte delle antere si saranno aperte e si noterà abbondante quantità di polline sui vassoi.

Quando non è possibile eseguire subito l'impollinazione, occorre provvedere a conservare il polline in ambienti freddi ed asciutti; la temperatura consigliabile è di circa 1-1,5° C. Il polline si può spedire in tubi a strati coibenti, con il cosidetto ghiaccio secco per mantenere una temperatura bassa; inoltre è bene forare il coperchio del recipiente per mantenere il polline asciutto. Per la conservazione è stato consigliato il 25 % di umidità relativa.

Sono state studiate molte sostanze inerti da unire al polline per renderne più economica la disseminazione; così hanno dato buoni risultati a New York le mescolanze con farina di grano, amido di mais, carbone dolce polverizzato, argilla smettica, talco e licopodio.

Nelle esperienze di Bullock e Overley furono saggiati 37 prodotti * nel tentativo di trovare una polvere inerte poco costosa e adatta a mantenere un elevato grado di germinabilità. Per le prove ciascuna sostanza fu macinata e mescolata al polline nella proporzione del 75 % di diluente e 25 % di polline. Il miscuglio veniva posto in piccole fiale dalle quali si prelevavano campioni del miscuglio ad intervalli di tempo per i saggi delle germinazioni che venivano confrontate con quelle di solo polline.

Tre prodotti dettero miglior prova come diluenti: il latte in polvere (non grasso), l'albume di uovo e il licopodio; essi si sono equivalsi nelle prove di germinazione. I primi due sono più facilmente disponibili e meno costosi del licopodio. Poche prove sono state fatte in pieno campo, ma si può dire che si ha una certa fiducia per l'applicazione pratica.

---

* Licopodio, polvere di latte non grasso, caseina, caseinato di sodio, albume d'ovo, asparagina e suo sale sodico, papaia, pepsina, urea, lievito secco, lattosio, destrosio, levulosio, maltosio, saccarosio, mannite, agar e tipi similari, diastasi, amido di granturco, polvere di guscio di noce, farina di grano, di soja, destrine, stearato di zinco, carbone dolce, talco, carbonato di calcio, ecc.

Diversi zuccheri, come il lattosio ed il maltosio, ecc. ed altre sostanze come bacto-agar, caseinato di sodio e diastasi si sono dimostrate promettenti, senza essere per ora di pratico impiego. Forse per mancato appropriato trattamento, non si sono avute favorevoli conferme dalla caseina e dall'agar-agar. Invece, il polline diluito con latte in polvere, albume d'uovo e licopodio, dimostrò migliore germinabilità di quello non mescolato; ciò è dovuto alla migliore regolazione dell'umidità ed aereazione del diluente.

Il problema della impollinazione artificiale è, anzitutto, un problema economico, che può essere risolto in gran parte con adatte consociazioni, come vedremo in seguito, e con l'allevamento di sufficienti colonie d'api. Esso tuttavia può essere giustificato in casi particolari di piccoli frutteti o per la mancanza di adatte razze impollinatrici a sufficiente distanza. Più complesso è il problema della distribuzione « meccanica » anche nei riguardi dei diluenti del polline che debbono essere ulteriormente studiati.

LA STERILITÀ MORFOLOGICA

La sterilità morfologica si manifesta con la mancanza, la trasformazione o la deficienza di sviluppo degli organi sessuali; essa può interessare tanto l'apparato riproduttore maschile, quanto quello femminile (meno frequente) a seconda delle specie che si considerano.

Già Müller-Thurgau rilevò fin dal 1898 che il melo « Sans Pépins » presentava i fiori sprovvisti di stami e con 14-15 pistilli, invece di 5. Questo melo produceva poche frutta per mancanza d'una impollinazione adeguata.

Il Bauhin, come rileva il Kobel (1931), comprese tra i meli coltivati il *Pyrus apetala*, il quale manca di petali e di stami e porta 15 pistilli.

Queste forme di sterilità morfologica si riscontrano tanto nelle razze precoci quanto in quelle tardive e sono state poste in relazione ad un gene recessivo e quindi sono ereditarie.

L'Ewert (1929), ibridò una di queste forme con il melo « Cellini » ottenendo esemplari a forme normali.

Sono noti i casi di androsterilità morfologica nel pesco, come abbiamo indicato nel volume « Peschicoltura » (1950); nel susino ed in altre specie sono pure abbastanza frequenti casi di ginosterilità, come risulta da apposita letteratura anche recente. Accenniamo solo all'olivo, con i lavori di Morettini, nostri, di Ruggieri e di altri, sull'aborto dell'ovario per il quale ci esprimemmo fin dal 1942: « In conclusione, si può dire che l'aborto dell'ovario dipende da due fattori, di cui uno inerente a particolare carattere della razza e l'altro ambientale connesso con modificazioni di vita della pianta e in modo precipuo con fattori nutrizionali. Questi due fattori possono interferire fra di loro sommando gli effetti negativi o parzialmente compensarsi ».

Recentemente Baldini (1948) ha descritto casi di androsterilità in due stirpi di pero ottenuti dal prof. Morettini (« Kieffer Seedling » × « Decana d'Inverno ») in cui sono state riscontrate degenerazioni del tessuto sporigeno con mancata formazione dei granuli pollinici.

Nel *Diospyros Kaki* il Morettini (1949) ha posto in evidenza che i cosidetti « fiori femminili » per sterilità degli stami presentano le antere sviluppate, ma atrofiche ed il tessuto sporigeno è incapace di produrre il polline; in questa specie poi esistono anche fiori unisessuali maschili.

Anche nella vite ed in altre specie si hanno casi di sterilità morfologica, mentre nelle varie specie in generale la natura stessa ha favorito la

xenogamia sia per l'asincronismo di maturazione degli organi sessuali (proterandria e proteroginia), sia per disposizione particolare degli stami e dei pistilli a causa della loro diversa lunghezza, o a stili e stami più o meno ricurvi e che divergono, ecc.

LA STERILITÀ PER INCOMPATIBILITÀ

Le fasi del normale processo fecondativo sono state già esposte. Fino ad ora non abbiamo fatto riferimento specifico alla capacità o meno del polline della stessa razza o di razze diverse di germinare, di sviluppare il budello pollinico attraverso lo stilo affinchè il pronucleo maschile raggiunga l'ovulo, operandone la fecondazione, come è stato descritto.

Si hanno, peraltro, dei casi molto frequenti nei quali il polline germina, ma il budello pollinico non è capace di attraversare lo stilo, oppure il budello lo attraversa, ma impiega un tempo superiore a quello nel quale l'ovocellula è atta ad essere fecondata, oppure il budello stesso non attraversa il micropilo. Vedremo in seguito le cause di questa incompatibilità, ma intanto è bene precisare il significato della terminologia adottata.

Autocompatibilità o, meno propriamente, autofertilità si ha nelle razze o cloni * in cui si constata la fecondazione autogama dell'ovocellula con il polline prodotto dallo stesso fiore o portato dallo stesso albero o da soggetti appartenenti alla stessa razza o stirpe clonale.

Autoincompatibilità o, meno propriamente, autosterilità si ha nelle razze o cloni nei quali, per quanto siano provvisti di fiori ermafroditi con organi sessuali morfologicamente e fisiologicamente normali e disposti in modo che il polline possa pervenire sullo stigma al momento della sua recettività, la fecondazione non ha luogo nè fra i gameti dello stesso fiore, nè fra quelli portati da diversi fiori o da diversi alberi della stessa razza o stirpe clonale.

Interincompatibilità o, meno propriamente, intersterilità si ha quando due o più razze o cloni non sono atte a fecondarsi o reciprocamente o unilateralmente per le cause che saranno pure esaminate.

---

* Come è risaputo, si dà il nome di clone o stirpe clonale alle discendenze per via agamica da un'unica pianta capostipite, che come tale si distingue per le uniformi caratteristiche morfo-biologiche comuni a tutti gli individui della stirpe e che conservano inalterata una determinata compagine genica. Il clone si identifica con quelle unità che in senso orticolo chiamiamo varietà (nel senso più ristretto e non dell'assieme delle stirpi similari) e che più propriamente dovrebbero denominarsi razze, per evitare perplessità nelle differenziazioni morfologiche, che possono mancare.

Abbiamo detto che le denominazioni di autosterilità, ecc. sono improprie e ciò perchè la sterilità si ha solo quando gli organi sessuali sono funzionalmente difettosi, come s'è detto; invece, nei casi ora in esame, essi funzionano bene con polline di adatta provenienza. Il Brieger propose il termine meno corrente di « parasterilità ».

Gli autori inglesi ed americani usano comunemente « self-compatibility » (autocompatibilità), « self-incompatibility » (autoincompatibilità), « cross-compatibility » (intercompatibilità) e « cross-incompatibility » (interincompatibilità).

Nel capitolo iniziale abbiamo indicato le date storiche delle prime osservazioni e scoperte dell'autosterilità o incompatibilità, che sono state precedute dai rilievi del Kölreuter nel *Verbascum phoeniceum* (1764) e dal Gärtner nel *V. nigrum*.

Il merito di aver dimostrato la sterilità per incompatibilità spetta ad Osterwalder (1910), collaboratore di Müller-Thurgau, con il suo classico studio sul processo della fecondazione e sull'embriologia delle Pomacee. Egli riscontrò, oltre che nei peri anche nel melo « Rosa di Böhmischer » che l'« autosterilità » era dovuta all'arresto dello sviluppo del budello pollinico nel tessuto dello stilo: il tubetto, infatti, era penetrato appena 2-4 mm nel tempo in cui il polline di altre razze aveva già fecondato l'ovocellula. Sono pure noti gli studi del Correns (1912-13) sulla *Cardamine pratensis,* quelli di East e collaboratori su *Nicotiana alata,* ecc., mentre poi il Sirks (1927) nella sua importante memoria ribadì che l'incompatibilità era propria dei gameti perfetti nei casi in cui il granulo pollinico sano e funzionante emette il budello, ma questo non raggiunge l'ovocellula per una « disarmonia » sussistente tra il budello stesso e il tessuto conduttore dello stilo.

Le forme di sterilità per incompatibilità possono essere indicate come segue in gruppi.

Le razze sono reciprocamente incompatibili, le razze sono reciprocamente compatibili, più razze sono in parte reciprocamente compatibili e in parte incompatibili.

L'incompatibilità d'incrocio dev'essere posta in rapporto alla compatibilità o incompatibilità delle diverse razze per i rapporti reciproci.

Ricerche sullo sviluppo dei tubetti pollinici e incompatibilità. — Le classiche ricerche dell'Osterwalder (1910) sono state confermate da vari autori come Knicht (1913), Wilcox (1922), Beaumont (1922-27), Roberts (1926), Crane (1927), Cooper (1928), Kobel (1927-39), Afify (1933), ecc. L'Asami nelle sue esperienze sul pero « Chojuro » osservò che il budello pollinico aveva un de-

corso normale; ma non si aveva il passaggio nel micropilo, probabilmente per emissione di sostanze inibenti.

Indagini sistematiche sono state eseguite da Kobel (1926-1927, 1934-1939), il quale operò su fiori che castrava prima dell'antesi e li richiudeva in sacchetti di pergamena; dopo due giorni eseguiva l'impollinazione con le razze allo studio e dopo altri quattro giorni fissava i pistilli in alcool ed acido acetico. In questo momento i budelli pollinici atti a fecondare l'ovulo avevano già attraversato l'ovulo stesso, mentre quelli incompatibili si arrestavano nella parte superiore dello stilo (3-4 mm); il tubo pollinico si colora con bleu sciolto in lattofenolo per poterlo bene osservare.

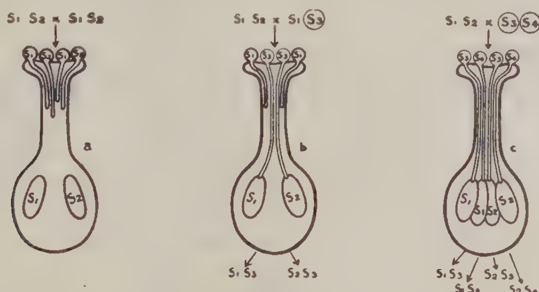


Fig. 17. – Rappresentazione schematica dello sviluppo del tubetto pollinico in razze incompatibili e autocompatibili (da Crane e Lawrence, 1929).

In questi casi il budello pollinico penetra poco in quanto il suo apice si rigonfia, i nuclei degenerano, mentre l'apice del budello stesso è circondato da mucillaggine. L'Afify (1933), riscontrò in razze di ciliegio che il budello pollinico si ripiegava ad uncino, mentre Jost (1923) aveva attribuito l'incompatibilità a catalizzatori (enzimi, ormoni); Correns a sostanze non individuabili, ma identiche per i diversi organismi, in contrapposto a Clummings (1936), che l'imputò al fatto che gli « agenti » che stimolano la crescita del tubo pollinico hanno minore efficacia di quello che si verifica nell'incrocio compatibile.

Le osservazioni e le ricerche di vari autori come l'East (1924), East e Mangelsdorf (1925), il Crane (1927), il Correns (1928), il Brieger (1929), il Lawrence (1930), il Kobel (1939), ecc. hanno posto in rilievo che l'incompatibilità è ereditaria.

L'impedimento fisiologico dell'accrescimento del budello pollinico è stato attribuito a particolari geni, detti « geni della sterilità » che si indicano con la lettera S. È risultato che l'individuo ha sostanze specifiche il cui sviluppo è legato ad una serie multipla di geni allelomorfi distinti tra loro mediante un indice S_1, S_2, S_3, ecc.

L'incompatibilità ha basi genetiche e in ogni caso si deve tener presente, per comprendere i rapporti tra questi geni e le manifestazioni di sterilità per incompatibilità, come hanno fatto rilevare Crane e Lawrence (1938) che il polline non può svilupparsi normalmente nello stilo di una razza che possegga i medesimi fattori di incompatibilità. Nelle importanti note sulla *Nicotiana*, l'East (1927) ammetteva che quando i fattori che si incontrano sono uguali producono sostanze che inibiscono la crescita, mentre quando sono diversi accelerano la crescita. Quindi le impollinazioni tra due individui i quali abbiano la stessa formula genetica sui riguardi del fattore S causano inibizioni nella crescita del budello pollinico.

Oltre alla serie S dei geni della sterilità se ne ha un'altra comprendente fattori stimolanti T (Crane e Lawrence) formanti la serie T_1, T_2, T_3, ecc.; la prima è epistatica su quest'ultima. T in dose doppia è però più attivo di S in dose semplice. Così nel caso che il budello pollinico possegga due fattori di incompatibilità eterozigoti e due della serie T omozigota, essendo T in dose doppia nello stilo, il budello pollinico potrà effettuare le fecondazioni come nei casi compatibili.

Le razze diploidi e i fattori di incompatibilità. — A questo punto accenneremo ad alcuni esempi per le razze diploidi e per quelle triploidi.

Nelle razze diploidi possiamo ammettere la formula S_1 S_2 rispetto ai fattori di incompatibilità nelle cellule somatiche di una razza autoincompatibile. Ambedue questi fattori saranno contenuti nelle cellule del tessuto stilare, mentre nella meiosi che precede la formazione delle cellule sessuali si avranno granuli pollinici con S_1 o S_2 in parti uguali. Questi nel tessuto dello stilo troveranno i geni corrispondenti della sterilità che impediranno il loro accrescimento e quindi la fecondazione.

Se due genitori nelle combinazioni diploidi, hanno fattori genetici di incompatibilità uguali avremo: S_1 S_2 - S_1 S_2. Il polline S_1 S_2 non potrà penetrare nel tessuto stilare in quanto ha gli stessi geni. È il caso della sterilità per autoincompatibilità se si ha autoimpollinazione e di sterilità per incompatibilità incrociata nelle razze eteroimpollinate reciprocamente incompatibili.

Se i due genitori hanno fattori di incompatibilità diversi S_1 S_2 - S_3 S_4 tanto il budello pollinico con il fattore S_3 come quello con il fattore S_4 potranno effettuare la fecondazione. La progenie presenterà rispetto ai fattori di incompatibilità combinazioni diverse tali da permettere la costituzione di quattro gruppi caratterizzati rispettivamente dalle formule:

$S_1 S_3$ - $S_1 S_4$ - $S_2 S_4$ - $S_2 S_3$. Nelle eventuali impollinazioni con i propri genitori il comportamento di queste varietà dei quattro gruppi sarà analogo al caso seguente. Naturalmente, nelle autoimpollinazioni, le razze dei diversi gruppi sono autoincompatibili.

Se di due genitori hanno un solo fattore di incompatibilità uguale, l'altro è diverso: $S_1 S_2$ (♀) - $S_1 S_3$ (♂). In questo caso solo il tubetto pollinico con S_3 può penetrare nello stilo e fecondare gli ovuli con S_1 e S_2. Ne consegue che la progenie avrà la formula $S_1 S_3$ o $S_2 S_3$. Nelle impollinazioni tra genitori e figli il comportamento è sempre analogo a quello verificatosi tra padre e madre nel caso di soggetti con la formula $S_2 S_3$ e per la progenie $S_1 S_3$ solamente quando si instaurino rapporti con la madre. Considerando invece la progenie $S_1 S_3$ e il padre allora si hanno gli stessi fattori genetici di incompatibilità. Naturalmente i soggetti F_1 autoimpollinati si dimostreranno autoincompatibili.

In una serie di ricerche Kobel, Steinegger e Anliker (1939) riscontrarono 11 fattori di sterilità nelle 10 razze diploidi di melo saggiate. Fra questi 11 fattori sono possibili: $\frac{n\ (n\text{-}1)}{2} = \frac{11 \times 10}{2} = 55$ combinazioni, ovvero gruppi intersterili, mentre per un egual numero di razze di ciliegi gli autori riscontrarono possibili solo 21 combinazioni. Da ciò consegue che la intersterilità nei meli è molto meno frequente che nei ciliegi dolci; essendovi nei meli più fattori di sterilità, è minore o spesso notevolmente minore la possibilità che avvenga l'impollinazione di due razze aventi gli stessi fattori. La causa intima di questa differenza potrebbe ravvisarsi nel fatto che le razze coltivate di meli sono la discendenza imbastardita di più specie selvatiche della sezione *Eumalus*, mentre le razze di ciliegi dolci sarebbero da ricondursi ad un'unica specie botanica.

Le razze triploidi ed i fattori di incompatibilità. — Le razze triploidi contengono nelle loro cellule tre volte il numero cromosomico base e debbono perciò avere tre fattori di sterilità. La probabilità che sui loro stigmi pervengano granelli pollinici che contengono dei fattori di sterilità identici ai loro dev'essere quindi aumentata nella proporzione di 3 : 2 rispetto alle razze diploidi normali.

Meritano di essere ricordate, per il tentativo di riferirsi alla poliploidia secondaria definita da Darlington e Moffet (1930), le indagini di Afify (1933) che avrebbe osservato nell'incrocio « Cox' Orange » × « Ellison Orange » quattro comportamenti dei granelli pollinici: *a*) quelli che non germinano affatto; *b*) quelli i cui budelli pollinici

penetrano pochissimo e si ripiegano poi in su; *c*) quelli i cui budelli attraversano circa 1/3 della lunghezza dello stilo e poi rimangono indietro e *d*) quelli che arrivano fino all'ovocellula.

Ora secondo Darlington e Moffet (1930) il numero aploide di 17 cromosomi nei meli e nei peri non sarebbe un numero base, ma si sarebbe formato da $2 \times 7 + 3$, in cui 7 deve essere considerato come numero base delle Rosacee. Nel numero 17 delle Pomacee si ritrovano i sette cromosomi iniziali, ma tre ripetuti tre volte e quattro due volte (AAA, BBB, CCC, DD, EE, FF, SS). In base a ciò Afify fu indotto a credere che nei gameti delle varietà diploidi del melo siano contenuti due fattori di sterilità e nelle cellule somatiche quattro e che da questo si abbia come conseguenza il diverso comportamento da lui osservato dei budelli pollinici.

Se non che accurate indagini di Kobel, Steinegger e Anliker (1939) hanno posto in evidenza il comportamento dei budelli pollinici nello stilo, i quali, nelle combinazioni incompatibili si rigonfiano all'estremità e si arrestano comportandosi alla stessa maniera come in *Nicotiana Sanderae* e *Veronica syriaca*; essi non hanno quindi riscontrato le complicazioni rilevate da Afify.

Gli autori hanno rilevato maggiori difficoltà nello studio dell'impollinazione delle varietà triploidi che non nelle diploidi, in quanto le prime, dato il loro polline per lo più difettoso possono essere usate solo come « razze materne » nelle combinazioni.

In un totale di 22 razze furono riscontrati come minimo 13 fattori di sterilità; fu dedotta la costituzione di 7 delle 12 razze triploidi.

Considerando come minimo i 13 fattori indicati, si ha $\frac{13 \times 12}{2} = 78$ combinazioni possibili a cui devono essere aggiunte quelle triploidi, che si calcolano con la formula $\frac{n\ (n\text{-}1)\ (n\text{-}2)}{6}$ e quindi $\frac{13 \times 12 \times 11}{6} = 286$ quindi si ha $286 + 78 =$ a un totale di 364 combinazioni diverse.

La conoscenza del comportamento dei fattori di sterilità è utile anche per chiarire la questione della discendenza, in quanto ciascuna cellula figlia diploide deve possedere un fattore comune tanto con la razza materna quanto con quella paterna. Nel caso che i genitori abbiano un fattore in comune, allora la metà delle razze figlie combinano i loro fattori di sterilità con quelli del padre secondo lo schema: $S_1\ S_2 \times S_1\ S_3 = S_1\ S_3 + S_2\ S_3$.

Ma consideriamo ora partitamente le razze triploidi che hanno tre assetti cromosomici e quindi tre fattori di incompatibilità che indichiamo con $S_1\ S_2\ S_3$. Nelle impollinazioni con tre razze diploidi con le rispettive

formule $S_1 S_2$, $S_2 S_3$ e $S_1 S_3$, si avranno nello stilo $S_1 S_2 S_3$ tubetti pollinici con S_1, S_2 e S_3; perciò:

$S_1 S_2 S_3 \times S_1 S_2$ = sterile per incompatibilità;
$S_1 S_2 S_3 \times S_1 S_3$ = sterile per incompatibilità;
$S_1 S_2 S_3 \times S_2 S_3$ = sterile per incompatibilità.

Se la razza diploide avesse la formula $S_1 S_4$, solo il tubetto pollinico con S_4 si svilupperebbe nello stilo:

$S_1 S_2 S_3 \times S_1 S_4$ = fecondazione selezionata.

Una completa fertilità si avrebbe nel caso che la razza diploide avesse formula $S_5 S_6$:

$S_1 S_2 S_3 \times S_5 S_6$ = fertilità.

Potremo continuare ancora nella esemplificazione delle combinazioni, ma ciò occuperebbe troppo spazio. Ricordiamo solo che il comportamento genetico dei fattori di incompatibilità, nel meccanismo della trasmissione ereditaria, presenta ancora molti lati oscuri, per cui sarebbero necessarie ancora estese ricerche con materiale adeguato e prolungate nel tempo. Già la letteratura ha registrato cospicui apporti su varie altre specie: di Correns (1912-1913) su *Cardamine pratensis*; di Stout (1916-1923) su *Cichorium intybus*; di East, Park e Anderson (1915-1925) su *Nicotiana alata*; di Lehmann (1919-1922) su *Veronica*; di Baur (1919) su *Anthirrinum hispanicum*; di Wad (1923) su *Ipomoea batatas*; di Sirks (1926) su *Verbascum phoeniceum*, ed altri ancora.

È POSSIBILE SUPERARE DIRETTAMENTE L'INCOMPATIBILITÀ?

Sono noti vari tentativi rivolti al superamento della sterilità per incompatibilità per via diretta, per ovviare all'impiego degli impollinatori compatibili. Si tratta, naturalmente, ancora di tentativi condotti su altre specie, ma che meritano un cenno, pur comprendendo che le difficoltà sono molteplici e numerosi gli insuccessi.

Recentemente, in Inghilterra, alla John Innes Institution, dove si hanno i contributi di Darlington, Lewis e Crane, abbiamo appreso l'interpretazione sul meccanismo di azione dei fattori della incompatibilità (Lewis, 1948). « Un fattore S produce nel granulo pollinico una sostanza che non è identica con la sostanza prodotta nello stilo dello stesso fattore S, ma un complemento di questa. Le due sostanze reagiscono come fa un antigene ed il corrispondente anti-corpo ». Inoltre, nel polline è uno solo il fattore S che agisce, mentre nello stilo sono due.

L'impiego di sostanze di natura chimica nei primi tentativi ha dato risultati negativi e ciò può essere giustificato se si pensa che la sterilità per incompatibilità ha basi genetiche. Per riuscire bisognerebbe determinare nei geni, a cui sono dovuti i fattori di incompatibilità, delle vere e proprie mutazioni.

Già il Roy (1939) con trattamenti a base di acido fenilacetico, acido naftol-acetico e indolilacetico sugli stili del ciliegio non ebbe alcuna dimostrazione sull'efficacia nella accellerazione della crescita del tubetto pollinico.

Risultanze positive, con diverse interpretazioni, furono ottenute (Eyster, 1941) con trattamenti a base di alfa naftalene-acetamide su esemplari autoincompatibili di *Petunia, Tagetes, Trifolium repens, Brassica oleracea,* le quali poi si dimostrarono autoincompatibili. Ciò fu attribuito dall'Eyster alla « neutralizzazione » della secrezione ovarica ad opera dell'alfa-naftalene-acetamide, e detta secrezione non è più in grado di inibire o ritardare notevolmente lo sviluppo del tubetto pollinico. Questa interpretazione fu criticata dal Lewis che ritenne, in base al fatto che l'incompatibilità è determinata da particolari sostanze prodotte dai fattori S nel granulo pollinico e di natura diversa nello stilo, l'azione dell'alfa-acetamide non neutralizzante in confronto delle sostanze di incompatibilità, ma piuttosto un'azione di sostituzione dell'ormone antiscissione normalmente prodotto dal tubo pollinico di polline compatibile o dall'ovulo subito dopo la fecondazione. Il Lewis (1942) rilevò che l'alfa-naftalene-acetamide su *Prunus avium* agisce sulla formazione dello strato di scissione alla base dello stilo, ritardandone la formazione e prolungando il tempo ai tubetti pollinici per raggiungere l'ovario. L'autore ritiene che l'uso di questa sostanza non possa essere esteso per eliminare l'ostacolo dell'autofecondazione, ma piuttosto per diminuire la sterilità « interspecifica » nelle piante, specialmente in quelle che hanno frutti con molti semi; è probabile che solo nelle piante con deboli effetti di incompatibilità si possa renderle autofertili dopo tale trattamento.

Sono altresì note le importanti ricerche del Lewis (1946, 1948) su *Oenothera organensis,* autoincompatibile, di cui ha sottoposto a trattamenti di raggi X i fiori che fornivano il polline per le autoimpollinazioni.

Egli dimostrò che è possibile rendere autocompatibile una pianta di una specie autoincompatibile e che la maturazione del fattore S avviene nei primi stadî dello sviluppo dell'antera ed in un nucleo che deve subire cinque divisioni mitotiche prima della meiosi.

Di particolare interesse sono gli studi e le ricerche in corso ad opera di Lewis in Inghilterra per ottenere mutazioni autofertili in meli, peri

ciliegi secondo la tecnica seguita per l'*Oenothera*, come abbiamo riscontrato direttamente (Breviglieri, 1951). È ancora prematuro l'esame delle risultanze ottenute.

RIASSUNTO

Premesso un cenno sulla genesi anormale del polline e dell'ovocellula, nonchè sul normale processo fecondativo del melo, del quale sono indicate le fasi, l'A. fa riferimento alle anomalie del processo fecondativo con particolare riguardo allo zigoto. In seguito si considerano l'impollinazione e gli insetti pronubi, con particolare riguardo all'indispensabile ausilio delle api, l'impollinazione artificiale, la raccolta ed il trattamento del polline. L'A. accenna pure alla sterilità morfologica e si intrattiene in modo particolare sulla sterilità per incompatibilità.

SUMMARY

STUDIES AND RESEARCHES ON THE FLOWER AND FRUIT BIOLOGY OF THE APPLE IN THE FERRARA PROVINCE. II.

by Nino Breviglieri

The paper begins with a sketch of the abnormal evolution of the pollen and of the ovicell as well as of the normal process of fertilization of the apple tree, the phases of which are indicated. Reference is then made to the abnormalities of the process of fertilization with particular regard to the zygote. Following this, the pollination and the pollinators insects are considered, with particular regard to the indispensable assistance of the bees, artificial pollination, the harvesting, and the treatment of the pollen. Morphological sterility is discussed and sterility through incompatibility is particularly dealt with.

Ricevuto il 5 giugno 1952.

STAZIONE AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Vincenzo Carrante)
BARI

Luigi Della Gatta

ULTERIORI RICERCHE SULLE TERRE ROSSE PUGLIESI

Nota II. - Il contenuto in manganese *

1. — Considerazioni generali

Il manganese è elemento nutritivo essenziale sia per gli organismi vegetali che per quelli animali, nei quali esplica importanti funzioni, entrando a far parte anche di complessi proteici. La nozione di tale importanza, tuttavia, deve ritenersi del tutto recente. Dopo la conferma che il De Saussure (14) dette dell'esistenza del manganese nelle ceneri delle piante già rilevata da Scheele (43) nel 1774, per lungo tempo rimase incerto se dovesse considerarsene la presenza come incidentale o sostanziale. Sembrava che il Mn fosse uno di quegli elementi che per essere diffusamente presente nei substrati vitali, si dovesse trovare negli organismi per una sorta di contaminazione o assorbimento passivo. L'ipotesi era avvalorata dal fatto che il Mn si riscontrava negli organismi in quantità sempre estremamente piccole, le quali sembravano insufficienti per una qualunque azione biologica, non essendo allora note le azioni catalitiche. Fu il Pichard (34) che per il primo dimostrò la grande diffusione del Mn nel regno animale e in quello vegetale. Secondo i suoi risultati il Mn è contenuto in tutte le piante, più concentrato nelle foglie e getti giovani, in generale negli organi più attivi della vegetazione. Il Pichard dimostrò essere il Mn ugualmente diffuso negli organismi animali anche se meno abbondante. Numerosissimi studi successivi hanno confermata la generale diffusione del Mn nel regno vegetale. Tra i più importanti stanno certamente quelli, del resto assai noti, del Bertrand e coll. (3), nonchè quelli di Jadin e coll. (24). Assai interessanti appaiono gli studi di Headden (19) e di Bruère (8) sul Mn nel frumento per la dimostrazione che si ritrae della generale presenza e costanza dell'elemento

---

* Per la Nota I, vedi questi *Annali*, 1950, n. s., vol. IV, num. 2.

in tale vegetale. Da altre ricerche, tra cui un lavoro di Raffaelli (35), risulta accertato che il contenuto in Mn delle varie piante come dei vari organi, è variabile secondo lo stato di attività, secondo la stagione, e, in genere, è influenzato dalle condizioni ambientali. Questi fatti dimostrano già l'importanza dell'elemento, ma da essi non ne risulta la funzione. Come è noto, il Mn ha, dal punto di vista chimico, una spiccata caratteristica che è quella di una relativa facilità di passare da livelli di ossidazione inferiori a superiori e viceversa. Pertanto fu avanzata l'ipotesi che esso prenda larga parte nelle azioni di ossiriduzione, la cui importanza per il chimismo sia vegetale che animale è riconosciuta notevolissima. Ben numerose ricerche sperimentali sull'argomento hanno confermata tale ipotesi. Tra l'altro è stato indiscutibilmente dimostrato come, mancando tra gli altri elementi nutritivi il Mn, le funzioni vegetali e animali vengano turbate o del tutto impedite, mentre l'aggiunta di piccole quantità dell'elemento considerato all'alimento ripristina le funzioni stesse al loro grado normale. Ciò è stato riconosciuto nei riguardi di batteri, saccaromiceti, muffe, alghe, ecc. La conclusione di Hopkins (21, 22) in riguardo alle alghe, che il Mn sia necessario per la riossidazione del ferro dopo la riduzione di esso da parte dell'organismo, sembra di particolare interesse. Molto numerosi sono gli studi che riguardano la necessità del Mn da parte delle piante superiori e impossibile risulta accennare anche a una sola parte di essi. Vanno tuttavia citati quelli di McHargue (31) in quanto si attribuisce ad essi di aver definitivamente dimostrato l'indispensabilità del Mn per la vita vegetale. In effetti, precedentemente non erano mancate critiche all'affermazione dell'utilità del Mn ed anzi l'indispensabilità era stata finanche negata. Ricerche successive hanno messo in luce che il contenuto in Mn è persino in rapporto col contenuto vitaminico e Rudra (40), a conclusione di suoi studi, riferisce che tale elemento è addirittura indispensabile per la sintesi dell'acido ascorbico. Osservazioni notevoli riguardanti l'importanza biologica del Mn sono certamente quelle che si riferiscono all'insorgenza di vere e proprie malattie per deficienza nutritiva rispetto all'elemento considerato. I malanni più noti sono certamente il « gray speck » dell'avena e il « marsh spot » del pisello, i cui sintomi caratteristici sono descritti in vari lavori. Nell'avena si manifestano macchie necrotiche e una generale clorosi; nel pisello si ha formazione di punti necrotici bruni sui semi; in tutti e due i casi la produzione è influenzata sfavorevolmente. I due malanni possono essere prevenuti o curati sia coll'aggiunta di sali di Mn al terreno, sia modificando la solubilità dei composti di Mn già esistenti nel terreno stesso, sia con polverizzazione alle piante di sali di Mn (Albert, 1, Cook, 11, Da-

vies, 12, Samuel, 40, Lewis, 28). Ma malattie o disturbi da deficienza sono state segnalate sulle più svariate piante: frumento, segala, orzo, spinacio, fava, pomodoro e sono stati studiati da vari autori. A proposito del pomodoro Iverson (23) trovò che le spaccature del frutto erano in rapporto a deficienza di Mn. Interessanti sono senza dubbio molte osservazioni sugli alberi fruttiferi, su vari agrumi, ciliegio, nonchè su piante ornamentali. È stato pure rilevato che la carenza di Mn può rappresentare una concausa all'insorgenza di altre malattie. Sembra potersi collegare a tale ordine di fatti la possibilità di cura dell'antracnosi degli agrumi col metodo indicato da Petri (33) consistente nella somministrazione al terreno di solfato di Mn in ragione di g 60 per pianta ottenendosene notevole miglioramento.

L'impossibilità di provvedersi dai substrati delle quantità di Mn necessarie per l'espletamento dei fenomeni vitali normali è dunque causa di seri danni per le piante. Tuttavia egualmente notevoli inconvenienti sono stati riscontrati verificarsi laddove il Mn trovasi ad essere assorbito in quantità troppo elevate: in questo caso l'elemento causa notevoli stati tossici. Tali fenomeni si manifestano essenzialmente in terreni acidi o acidificati, e interessante sembra l'ipotesi di Maxwell (30) secondo cui l'effetto tossico sarebbe dovuto più che a eccessivo assorbimento di Mn, al fatto che in tali condizioni verrebbe depresso l'assorbimento del ferro, in quanto che questo ione, ossidato da quello, verrebbe portato allo stato ferrico con formazione di composti insolubili e perciò inassimilabili. Per eliminare siffatti inconvenienti è stato trovato sufficiente correggere la reazione del terreno, ottenendo in tal modo che il ferro ripassi in soluzione, e sia, per tal fatto, debellato il malanno.

Ma se dal complesso degli studi accennati risulta evidente la indisponibilità del Mn per le funzioni vegetali, non meno evidente risulta la stessa per le funzioni animali, sol che si considerino le acquisizioni che si sono andate accumulando in seguito alle molte ricerche sull'argomento. Il Bertrand (2) a conclusione di suoi studi affermò che il Mn è presente in tutti gli animali e in tutti gli organi e prodotti, con una sola eccezione rappresentata dall'albume di uovo. Quanto alla funzione, da molti studi deve ritenersi dimostrata la interdipendenza di tale elemento coi fenomeni di accrescimento e di riproduzione. Sembrano importanti specialmente i lavori di Titus e coll. (46) secondo le conclusioni dei quali, oltre che il rame, il Mn ha una notevole parte nella utilizzazione del ferro per la costruzione dell'emoglobina. Ma il Mn entra anche in gruppi proteici: l'« arginasi », importante enzima presente tra l'altro nel fegato, ha per « gruppo attivo » appunto il Mn collegato a un vettore colloidale proteico

(Rossi e Ruffo, 38); nel sangue di un mollusco, la « Pinna squamosa » è stato trovato circolare un composto proteico contenente Mn (Rankama e Sahama, 36) perciò detto pinnaglobulina.

Risulta evidente da questo pur breve riassunto come il Mn sia elemento essenziale per gli organismi vegetali quanto per quelli animali.

2. — Il manganese nei terreni

Il Mn è elemento molto diffuso sulla superficie terrestre. È probabile che siano pochi i terreni e le rocce del tutto sprovvisti. Nelle rocce e nei minerali il Mn si ritrova in tre stati di ossidazione, come ione bipositivo, tripositivo, tetrapositivo. È noto come siano relativamente pochi i minerali puri di Mn. L'elemento entra invece in buona parte dei minerali di ferro al quale si sostituisce parzialmente per diadochia. Il raggio ionico di Mn^{2+} è infatti quasi uguale a quello di Fe^{2+}. Per effetto degli agenti di decomposizione il Mn passa in circolo principalmente come bicarbonato, come il ferro, ma il bicarbonato di Mn è più stabile. La decomposizione del bicarbonato comunque conduce a composti Mn^{4+} e si hanno ossidi e idrossidi manganici come per il ferro. Entrambi passano in soluzione a potenziali redox bassi e precipitano a potenziali alti. Il Mn bivalente è abbastanza rapidamente ossidato a tetravalente per effetto dell'ossigeno atmosferico, ma Gerretsen (17, 18) ritiene vi concorrano azioni biologiche. Secondo Mann (29), tuttavia, anche l'inverso si verificherebbe: si avrebbe, cioè, al variare delle condizioni aerobiche-anaerobiche, una riduzione del Mn da uno stato più ossidato a uno meno ossidato. Il biossido di Mn, comunque sia formato, rimane in principio in soluzione colloidale di idrossido, probabilmente stabilizzato da colloidi organici, ma in seguito al variare delle circostanze precipita in buona parte come $Mn(OH)_4$, o finemente diviso come MnO_2. Le conoscenze riguardanti lo stato del Mn nei terreni agrari risultano assai approfondite da recenti studi. Secondo Fujimoto e Sherman (15), il Mn esistente nei terreni agrari è sottoposto a un complesso di fattori che ne fanno variare il grado di solubilità o utilizzabilità da parte delle piante. Questi fattori sono di natura fisica, di natura chimica, di natura biologica. Tra i fattori fisici sono da considerarsi i cambiamenti di temperatura e i cambiamenti del contenuto idrico. L'aumento di temperatura tende a aumentare la solubilità del Mn, l'aumento di umidità tende a diminuirla, fino a un certo punto tuttavia, oltre il quale, se si verifica ristagno di acqua, la solubilità aumenta. Il disseccamento è in conseguenza causa di aumento di solubilità. Le azioni chimiche riguardano i cambiamenti di reazione,

quelle delle condizioni di ossiriduzione, le variazioni indotte da aggiunta di fosfati. L'aumento del pH tende a fissare il Mn; l'addizione di acidi o di concimi a residuo acido quindi tende a solubilizzare il Mn, mentre il contrario si verifica per l'addizione di alcali o concimi a residuo basico. L'aggiunta di concimi organici tende a produrre solubilizzazione, evidentemente per spostamento della reazione verso l'acidità. Nello stesso modo agisce l'aggiunta di zolfo. La calcitazione, frequentemente applicata come correttivo dei terreni acidi, tende alla fissazione del Mn. La diminuzione dell'rH, mediante l'aggiunta di composti riducenti, tende a produrre solubilizzazione. L'aggiunta di fosfati ha azione incerta. L'attività biologica si riferisce essenzialmente all'azione di batteri: prevalendo in generale le specie ossidanti l'attività batterica tende in massima a fissare il Mn; se si manifestano condizioni di anaerobiosi, per effetto di bassa tensione di ossigeno, può svilupparsi una microflora riducente la quale tende a ridurre gli ossidi più alti di Mn per utilizzarne l'ossigeno, e quindi si ha solubilizzazione.

In sostanza le quantità di Mn solubili e perciò utilizzabili dalle piante possono variare molto in uno stesso terreno secondo le circostanze. Secondo Leeper (25, 26, 27), il Mn esistente nei terreni deve considerarsi distinto in due porzioni, la prima rappresentata dal Mn bivalente esistente come ione nella soluzione circolante oppure come ione scambiabile o anche in forma non scambiabile, la seconda costituita dagli ossidi più alti poco solubili. Questi non rappresenterebbero una parte del tutto inattiva, al contrario, in essa andrebbe a sua volta distinta una parte di facile reattività da un'altra relativamente inerte. In pratica queste porzioni possono essere differenziate in laboratorio impiegando mezzi estraenti diversi. Così il Mn idrosolubile può essere estratto con acqua, il Mn scambiabile con soluzione di acetato ammonico, il Mn facilmente riducibile con soluzione di acetato ammonico cui vengano aggiunti appropriati agenti riducenti. Secondo Leeper, l'agente indicato è l'idrochinone. La somma di queste tre prime porzioni viene definita dall'autore come Mn attivo, cioè quello capace di influire sulla nutrizione delle piante. Un'altra parte viene detta delle forme meno attive: questa sarebbe estraibile con agenti riducenti alquanto più energici dell'idrochinone. Un'ultima parte, infine, per l'estrazione della quale si richiederebbero più drastici trattamenti, sarebbe da considerarsi come inerte. Su tali premesse il Leeper ha condotti studi secondo i quali si dovrebbero considerare deficienti in Mn e pertanto suscettibili di manifestazioni patologiche da carenza di Mn (tipo « gray speck » dell'avena) quei terreni che contengono meno di 15 ppm (parti per milione o mg per kg) di Mn attivo definito come precedentemente, mentre ogni esigenza sarebbe soddisfatta in quei terreni in cui il Mn

attivo supera 100 ppm. I contenuti intermedi risulterebbero favorevoli o sfavorevoli secondo le circostanze. Le risultanze del Leeper sono state confermate dagli studi di Sherman e coll. (45) per vari terreni del Kentucky, da Twyman (47) per certi terreni inglesi e possono perciò essere presi come attendibili almeno come punto di partenza per ulteriori ricerche; in effetti, tenuto conto delle circostanze influenzanti, è probabile che quei limiti possano variare secondo quelle, e pertanto vadano ricercati e fissati probabilmente per ogni tipo di terreno, mediante prove fisiologiche.

3. — Il manganese nei terreni italiani

Gli studi sul Mn come elemento di importanza biologica non sono mancati in Italia, e si devono anzi ritenere numerosi. Tuttavia, pochi sono quelli interessati al contenuto in Mn nei terreni agrari. In generale, oltre che il contenuto in Mn di varie piante, e le variazioni di tale contenuto, è stato spesso studiato l'effetto sulle piante di aggiunte al terreno di sali di Mn, riscontrando a vicenda azioni positive e nulle. È probabile che l'inefficacia del trattamento, quando a tale conclusione gli studiosi giunsero, fosse una conseguenza della sufficienza di Mn utilizzabile esistente nel terreno, ma tale circostanza non sembra sia stata indagata.

Un lavoro di un certo interesse sul contenuto in Mn di terreni italiani, è quello del Contino (10). L'autore esaminò 23 campioni di terreno provenienti dalle provincie di Alessandria, Teramo, Avellino, Campobasso, Bari e Foggia, riscontrando un contenuto di tale elemento (solubile in acqua regia, espresso come Mn_3O_4) da tracce (cioè sotto 0,03 %) a 0,48 %. A seguito di tali risultati egli ritenne che i terreni esaminati contenevano, nella generalità dei casi, sufficienti quantità di Mn per i normali bisogni delle piante coltivate. Dal 1930 al 1941 sono stati pubblicati i noti studi regionali sui terreni agrari italiani, ma gli autori hanno generalmente trascurato di indagare sul contenuto in Mn dei terreni stessi, eccezione fatta di De Varda e coll. (13) e di Bottini e coll. (4, 6, 7) *. De Varda riporta il contenuto in Mn di quattro campioni della provincia di Gorizia (da 0,08 a 0,25 %, espresso come ossido, MnO?) e di due della provincia di Trieste (0,10 e 0,14 %).

* Degli altri autori di tali studi solo Comel e Pantanelli accennano alla presenza di Mn nei terreni esaminati ma non dànno indicazioni quantitative.

Bottini, nello studio sui terreni dei Campi Flegrei e del Vesuvio, indica un contenuto in Mn da tracce (0,01 % e meno) a 0,66 % (espresso come MnO solubile in HCl) su 83 campioni esaminati. È evidente l'interesse che queste determinazioni presentano dal punto di vista della conoscenza dei terreni considerati, e tuttavia poca luce se ne può trarre circa l'attitudine dei terreni stessi alla nutrizione delle piante per rispetto all'elemento considerato, dato che è indicato il contenuto totale senza tentativo di indicazione della parte utilizzabile. Più interessante è il lavoro, recentemente comparso, del Gattorta (16) nel quale l'autore, fondamentalmente secondo le indicazioni del Leeper, ha ricercato il Mn « attivo » in 36 campioni di terreni di vari luoghi d'Italia (10 della provincia di Roma, 3 della provincia di Latina, 9 della provincia di Cagliari, uno di Enna ed altri sparsi). È evidente che i dati dell'autore devono considerarsi di prima indicazione rispetto a siti tanto distanti, tuttavia dall'esame dei dati appare di interesse il fatto che accanto a terreni capaci di cedere alte dosi di Mn, cioè ricchi secondo le indicazioni di Leeper di Mn, attivo, ve ne sarebbero altri, come quelli di Cagliari, in cui le quantità di Mn attivo starebbero sotto i limiti indicati dal Leeper come minimi per la normale nutrizione delle piante. Il fatto fa intravedere la possibilità di esistenza di terreni, in Italia, incapaci di sopperire ai bisogni in Mn delle colture. Tuttavia secondo quanto riferisce Sibilia (44), non sono stati segnalati in Italia casi di « gray speck », di « marsh spot », o, in generale, di malattie da carenza di Mn. C'è da domandarsi però se ciò sia per effettiva assenza, per irrilevanza di sintomi, o per deficienza di osservazioni. Infatti Ciferri (9) dopo aver accennato al fatto che la questione è in Italia ancora poco studiata, asserisce esservi « elementi » per ammettere l'esistenza in alcuni luoghi di carenze di zinco e di manganese. Queste carenze possono anche, secondo quanto riferisce l'autore, non risultare appariscenti per mancanza di evidente sintomatologia (carenze fruste o occulte), ma poichè è dimostrato che ove sussistano il prodotto ne scapita per qualità o per quantità, dovrebbe sempre ricercarsene la possibilità di esistenza nei casi di raccolti qualitativamente o quantitativamente depressi senza cause evidenti. Nei casi sintomatici dubbi l'eventuale deficienza di Mn si potrà probabilmente mettere in evidenza con relativa facilità applicando i metodi di diagnosi fogliare studiati dal Roach (37) e in Italia da Scaramuzzi (42). Una volta accertato lo stato di carenza sarà facile provvedere ad eliminarla con uno dei metodi prima accennati, con vantaggio per la produzione. Quanto alla possibilità di esistenza di malattie da eccesso di Mn, ugualmente non esiste in Italia alcuna segnalazione in

proposito; tale eventualità ad ogni modo deve ritenersi poco probabile stante la relativa esiguità dei terreni acidi, i quali solo possono indurla, esistenti sul territorio italiano *.

4. — Il manganese nelle «terre rosse»

Da quanto è stato esposto appare come la questione del Mn nei terreni agrari presenti sensibile interesse. Per quanto riguarda i terreni italiani, sembrando il soggetto poco approfondito, ci è parso utile un contributo in proposito; naturalmente è stato ristretto lo studio ai terreni della regione pugliese, e, anche per quanto accennato prima, si è ritenuto utile limitare il campo a un solo «tipo» di terreno, vale a dire la «terra rossa», la quale del resto presenta il massimo interesse per il luogo, tenuto conto del fatto che, se si eccettua il Tavoliere di Foggia, essa, da sola, o in mescolanza con altri componenti detritici, sta a costituire gran parte del terreno agrario della regione. La terra rossa pugliese è stata largamente illustrata da Pantanelli e coll. (32) e pertanto non occorre farne qui descrizione alcuna. Sul contenuto in Mn della terra rossa pugliese si può trarre qualche indicazione dai dati del Contino già citati. Devono infatti ritenersi di terra rossa locale sei dei ventitrè campioni dall'autore analizzati; tuttavia riesce strano, per quanto più avanti sarà detto, che in due dei sei terreni Contino abbia trovato solo tracce di Mn; negli altri quattro egli ne trovò da 0,4 a 4,8 ‰ **. Solo altro dato sul contenuto in Mn delle terre rosse pugliesi è quello del Rossi (39) che trovò 7,8 ‰ di Mn totale in un campione del Gargano. Per le terre rosse di altri luoghi d'Italia l'unica indicazione è quella di De Varda e coll. contenuta nel lavoro già citato, secondo cui in quattro campioni dell'Istria si ebbe un contenuto in Mn da 0,8 a 2,5 ‰ (come Mn solubile in HCl). Da questi pochi dati, come è evidente, non si possono trarre deduzioni.

Per i risultati del presente studio che sono riportati più innanzi sono stati utilizzati 91 campioni di terra rossa provenienti in massima parte dalle provincie di Bari e Taranto nelle quali la terra rossa è maggiormente rappresentata (87 campioni) e in piccola parte dalle provincie di Brindisi e Lecce (4 campioni) ***. Dei 91 campioni è stato preparato

---

* Da una revisione di Bottini (5) risulta che su 27' 660 campioni di terreno su cui è stata determinata finora la reazione, rappresentanti circa un quinto del territorio nazionale, soltanto 0,92 % risultano acidi ($pH < 5,5$) e 6,57 % debolmente acidi ($pH = 5,5$-$5,9$).

** Epresso come Mn_3O_4 solubile in acqua regia.

*** I campioni si riferiscono allo strato 0-25 cm.

l'estratto cloridrico secondo il metodo indicato da Hendrich (20) e sugli estratti si è determinato il Mn (espresso come Mn) al colorimetro fotoelettrico col metodo al periodato di potassio secondo Willard e Greathouse (48), tuttavia modificato nella procedura come è detto in appendice, così da renderlo più rapido e facile. Coi risultati di tale determinazione si è inteso esprimere la totale frazione suscettibile di azione nel terreno. Sugli stessi 91 campioni è stato determinato il Mn attivo come definito da Leeper, cioè la frazione degli ossidi facilmente riducibili, estraibili con soluzione di idrochinone al 0,2 % in acetato ammonico normale neutro, e il Mn scambiabile, estraibile con acetato ammonico normale neutro. Da queste due frazioni si sono giudicati i terreni in esame. Sono stati fatti dei tentativi, che non vengono riportati, per le ragioni che verranno esposte, per determinare la frazione solubile in acqua, e, infine, su un numero ridotto di campioni (12 campioni) è stato determinato il Mn totale secondo il metodo della disgregazione mediante carbonato sodico, con ciò intendendosi ottenere una indicazione della frazione di Mn contenuta nei silicati indecomposti. I risultati delle analisi sono riportati nella tabella, insieme con i dati, per ciascun campione, del pH e del contenuto in calcare *, utili per la interpretazione dei risultati stessi, oltrechè con le indicazioni di origine dei campioni esaminati.

5. — Discussione dei risultati

La tabella che segue riporta alla colonna nona in parti per mille il Mn estratto con acido cloridrico dai 91 campioni considerati **. Dai dati risulta un minimo di 0,52 a Copertino (Lecce) e un massimo di 2,20 a Taranto con un valore medio di 1,11. La media dei valori della provincia di Bari risulta un po' più alta di quella di Taranto (rispettivamente 1,21 e 1,03). Considerando lo strato di 25 cm e il peso specifico apparente del terreno di 1,2, il contenuto di tale frazione di Mn in kg per ha risulterebbe da un minimo di kg 1560 a un massimo di

* La determinazione del pH è stata fatta al potenziometro con l'elettrodo a vetro, quella del calcare al calcimetro. Va notato a proposito del calcare che le terre rosse autoctone tipiche ne contengono normalmente poco, in genere da tracce a 5 %, con qualche eccezione fino al 10 %. Tuttavia esistono terre rosse di trasporto su tufi pliocenici o pleistocenici, e terre rosse alluvionali, che per essere variamente mescolate con detrito di provenienza del sottosuolo su cui poggiano, finiscono per contenere quantità di calcare più elevate. Sono terre rosse alluvionali i nn. 5 (Barletta) e 53 (Trani) della tabella, mentre sono terre rosse di trasporto su tufi i nn. 31 (Molfetta), 71 (Martina), 77 (Mottola), 82 (S. Marzano), 83 (Sava), 86 (Taranto), e 91 (Copertino).

** Espresso come Mn-ione.

kg 6600 con una media di kg 3330. La ripartizione delle frequenze può considerarsi come segue:

Meno di 0,50 ‰	0
Da 0,50 a 0,75 ‰	4
» 0,75 » 1,00 »	15
» 1,00 » 1,25 »	35
» 1,25 » 1,50 »	26
» 1,50 » 1,75 »	8
» 1,75 » 2,00 »	2
» 2,00 » 2,25 »	1
Oltre 2,25	0
	91

L'83 % dei campioni delle tre classi mediane contiene da 0,75 a 1,50 % di Mn acidosolubile.

Dalle cifre indicate appare evidente che le terre rosse pugliesi sono largamente provviste di Mn solubile in acido cloridrico. Il contenuto stesso risulta variare entro limiti relativamente ristretti, ciò che del resto era da attendersi data la sensibile costanza di caratteri del tipo del terreno. Le percentuali trovate rappresentano una riserva di durata praticamente infinita a disposizione delle coltivazioni se si tiene presente che il fabbisogno delle colture è soltanto di alcune centinaia di grammi per ha e per anno.

Nella colonna decima della tabella sono riportati in parti per milione i dati del Mn attivo riscontrato nei 91 campioni esaminati. Il minimo trovato appare essere di 240 nello stesso campione precedente indicato di Copertino, il massimo di 1456 nello stesso campione di Taranto, la media è di 708 (le medie per le provincie di Bari e di Taranto risultano quasi uguali, 709 e 711 rispettivamente). Il quantitativo per ha con le convenzioni indicate risulterebbe in base ai valori trovati, da un minimo di kg 720 a un massimo di kg 4368 con una media di kg 2124; in media il contenuto di Mn sotto forma di ossidi facilmente riducibili rappresenta circa i due terzi del Mn acidosolubile. La ripartizione delle frequenze può essere considerata come segue:

Meno di 200 p.p.m.	0
Tra 200 e 400 p.p.m.	8
» 400 » 600 »	22
» 600 » 800 »	34
» 800 » 1000 »	16
» 1000 » 1200 »	6
» 1200 » 1400 »	4
» 1400 » 1600 »	1
Oltre 1600	0
	91

L'80 % dei campioni, cioè quelli delle tre classi mediane, contiene da 400 a 1000 parti per milione di Mn sotto forma di ossidi facilmente riducibili (manganese attivo secondo Leeper).

Le cifre trovate stanno a indicare che nelle terre rosse pugliesi una copia notevolissima di Mn si trova nella forma indicata. Se si accetta l'indicazione del Leeper secondo cui i terreni con oltre 100 ppm di Mn attivo siano da considerarsi suscettibili di sopperire ai bisogni di ogni coltura, deve ritenersi che le terre in esame sono per tal rispetto in ottime condizioni poichè il loro contenuto è in media di sette volte tanto e in ogni caso non meno di due e mezzo volte circa.

Da notare che si riscontra una certa correlazione inversa tra contenuto in calcare e contenuto in Mn acidosolubile e attivo nel senso che aumentando il primo i secondi tendono a diminuire. Esiste poi una correlazione diretta tra Mn acidosolubile e Mn attivo.

Nella colonna undicesima sono riportati in parti per milione i contenuti in Mn scambiabile riscontrati nei 91 campioni esaminati. Come risulta dalle cifre, di fronte ai contenuti notevoli delle altre frazioni a cui si è accennato, fanno riscontro, salvo qualche eccezione, i contenuti esigui, spesso ridotti praticamente a zero, della frazione in esame. Ciò in qualche modo era da attendersi, tenuto conto della reazione e del calcare riscontrati sui campioni stessi; se si considerasse il limite di 3 ppm come minimo per la buona rispondenza delle coltivazioni, si troverebbe che solo 17 campioni su 91 contengono più del quantitativo detto e dei restanti 74 ben 61 contengono meno di 1 ppm. La ripartizione in classi mostra in effetti le seguenti frequenze:

Con tracce	21
Da tracce a 0,3	11
» 0,3 » 1,0	29
» 1,0 » 3,0	13
» 3,0 » 10,0	14
» 10,0 » 30,0	3
Oltre 30	0
	91

Tenuto conto che la classe dei campioni con tracce potrebbe scindersi, usando di più sensibili mezzi di analisi, in alcune minori, devesi dedurre che il valore medio più probabile sia da ritenersi quello di 0,7, valore medio della classe modale (da 0,3 a 1 ppm). Questa quantità riferita ad ha nel solito modo corrisponde a circa due kg. Le eccezioni alla generale povertà di Mn scambiabile si riscontrano nei campioni poveri o privi di calcare, nei quali il pH si abbassa al di sotto di 8 (da 7,6 a 8). Tra i

Manganese nelle terre rosse (espresso come Mn-ione)

Numero d'ordine	Numero di registro	Comune	Località	Coltura	pH	Calcare °/o	Mn totale °/oo	Mn in HCl °/oo	Mn riducibile p. p. m.	Mn scambiabile p. p. m.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		Provincia di Bari								
1	627	Acquaviva	S. Vito	Seminat.	8,05	0,6	1,21	0,88	505	4,0
2	799	Alberobello	Godotto	Seminat.	8,10	8,5		1,22	680	1,8
3	8n	Andria	Barba d'Angelo	Oliveto	8,20	5,5		1,10	523	Tr.
4	1n	Bari	S. Spirito	Oliveto	8,10	3,0		1,07	666	Tr.
5	7n	Barletta	Casello 17	Oliveto	8,15	14,5		0,88	440	Tr.
6	867	Bisceglie	Piscina Monaci	Arboreto	8,20	0,8		1,18	623	2,1
7	4n	Bisceglie	Ponte Giannetto	Arboreto	8,22	1,5	1,28	1,12	850	0,2
8	5n	Bisceglie	Villa di Renzo	Arboreto	8,05	15,5		0,96	614	Tr.
9	831	Bitonto	S. Leo	Seminat.	8,20	22,5		0,90	470	1,5
10	15n	Bitonto	Tuppetto	Oliveto	8,25	1,5		1,01	632	Tr.
11	16n	Bitonto	Monteladrone	Oliveto	8,20	0,2		1,30	641	Tr.
12	690	Bitritto	Ponte S. Marco	Fave	8,30	2,0		1,26	653	1,1
13	621	Casamassima	Masseria Zella	Arboreto	8,12	0,2		1,19	874	4,7
14	17n	Casamassima	Trappeto	Oliveto	8,10	2,0		1,28	796	Tr.
15	18n	Casamassima	Ciacci	Oliveto	8,20	0,2		1,06	770	Tr.
16	19n	Casamassima	Parco Sorbe	Vigneto	8,18	0,2	1,58	1,44	860	Tr.
17	589	Cassano	Iazzo Monache	Seminat.	7,86	Tr.		1,60	968	5,0

24	26n	Gioia	Petraro	Oliveto	8,18	24,0	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
25	639	Gioia	Cas. Isabella	Bosco	7,60	Tr.		1,71	1260	21,2
26	723	Gravina	Cantoniera n. 3	Seminat.	7,80	Tr.		1,26	532	17,1
27	67n	Locorotondo	Mancini	Seminat.	8,10	6,0	1,02	0,88	496	0,5
28	68n	Locorotondo	Groffoleo	Seminat.	8,12	1,0		1,22	640	0,4
29	769	Mola	Spilotra	Oliveto	8,18	0,4		1,04	705	3,4
30	2n	Molfetta	Terza Cala	Oliveto	8,20	4,2		0,90	514	0,3
31	3n	Molfetta	Casino Capochiani	Seminat.	8,40	36,0		1,12	292	0,6
32	804	Monopoli	Impalata	Veccia	7,70	Tr.		1,08	550	12,5
33	81n	Noci	Villa Gabrieli	Seminat.	8,10	0,3		1,16	641	Tr.
34	82n	Noci	Don Saverio	Seminat.	8,20	0,3		1,84	1288	0,7
35	656	Noci	Mass. Tamburiere	Grano	8,01	2,5		1,30	679	6,0
36	641	Noci	Cas. Mancini	Grano	8,10	1,0	1,33	1,20	587	5,1
37	947	Polignano	Quadrivio	Orto	8,20	7,0		1,02	541	7,2
38	944	Polignano	Macchialunga	Oliveto	8,20	28,0		0,94	541	1,3
39	80n	Putignano	Mass. Pinto	Oliveto	7,98	Tr.		1,39	1026	Tr.
40	682	Putignano	Bivio Papavero	Grano	8,10	1,2		1,10	692	5,1
41	78n	Rutigliano	Mad. di Palazzo	Vigneto	8,26	2,4		1,06	653	0,5
42	779	Rutigliano	Mad. di Palazzo	Mandorl.	8,02	Tr.		1,02	731	0,9
43	923	Rutigliano	Cas. Afforti	Mandorl.	8,20	1,0		1,22	744	1,8
44	79n	Rutigliano	S. Apollinara	Vigneto	8,05	Tr.		1,28	783	0,7
45	11n	Ruvo.	Cas. Sottano	Oliveto	8,25	10,5	1,17	1,06	487	0,5
46	20n	Samichele	Pezza Colombo	Oliveto	8,15	0,2		1,33	835	0,3
47	569	Sannicamdro	S. M. del Piano	Arboreto	7,95	Tr.		1,95	990	3,6
48	602	Santeramo	Murgia Parata	Pascolo	7,75	Tr.		1,48	936	7,0

Continuaz.: Manganese nelle terre rosse (espresso come Mn-ione)

Numero d'ordine	Numero di registro	Comune	Località	Coltura	pH	Calcare %	Mn totale ‰	Mn in HCl ‰	Mn riducibile p. p. m.	Mn scambiabile p. p. m.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
49	12n	Terlizzi	Pantanello	Oliveto	8,00	1,5		1,16	731	Tr.
50	13n	Terlizzi	Cappella Volpe	Seminat.	8,15	0,5		1,10	731	Tr.
51	14n	Terlizzi	Ponte Galeotto	Oliveto	8,20	0,4		1,33	692	0,4
52	868	Terlizzi	Macchia	Arboreto	8,20	2,2		1,40	750	1,5
53	6n	Trani	Casino Caratoio	Oliveto	8,20	25,0		0,66	414	0,7
54	9n	Trani	Casino Botta	Arboreto	8,15	0,2		1,10	418	0,6
55	896	Trani	Pisciaioli	Grano	8,17	5,0		1,16	874	0,9
56	62n	Triggiani	Torre S. Giorgio	Oliveto	8,30	1,5		1,02	569	0,2
57	782	Turi	Pesce	Mandorl.	8,02	Tr.		1,33	861	4,7
		Provincia di Taranto								
58	96n	Crispiano	Sorgente Chianca	Seminat.	8,20	3,3	1,27	1,14	550	0,7
59	101n	Crispiano	Caccavella	Seminat.	8,10	9,8		1,24	487	0,8
60	45n	Laterza	Ovile Sapone	Seminat.	8,20	16,8		1,22	587	0,2
61	46n	Laterza	Cappuccini	—	8,26	16,0		0,90	446	1,0
62	47n	Laterza	Cappuccini	—	8,00	0,5		0,73	390	1,5
63	49n	Laterza	Conte Cisterna	Seminat.	8,12	0,1		1,28	835	0,4
64	34n	Lizzano	Quart. La Rocca	Seminat.	8,20	1,6		1,62	1372	0,6
65	117n	Manduria	Masseria Sorani	Vigneto	8,20	5,4		0,93	641	Tr.

72	76n	Martina Fr.	Carosino	Seminat.	8,30	30,3		0,82	341	0,9
73	77n	Martina Fr.	Lamia Nuova	Seminat.	8,21	0,3		1,31	614	0,2
74	99n	Martina Fr.	Stab. Miceli	Vigneto	8,27	14,6		0,79	341	0,2
75	100n	Martina Fr.	Gorgofreddo	Seminat.	8,15	1,1		1,06	348	0,2
76	23n	Mottola	Mass. Beatrice	Seminat.	8,20	0,2	1,56	1,45	1206	0,4
77	24n	Mottola	Cascieri	Seminat.	8,19	14,7		0,92	523	0,8
78	83n	Mottola	Lo Specchione	Seminat.	7,95	Tr.		1,30	1170	0,9
79	264n	Mottola	Taverna	Mandorl.	8,20	3,3		1,64	770	Tr.
80	106n	S. Giorgio	Baronia	Seminat.	8,12	0,5		1,01	757	0,6
81	119n	S. Marzano	Chiese Vecchie	Oliveto	8,20	1,1		1,60	809	0,7
82	120n	S. Marzano	Mass. Niviera	Oliveto	8,20	15,4		1,08	718	0,5
83	113n	Sava	Magalino	Oliveto	8,20	23,0		0,83	578	0,1
84	118n	Sava	Masseria Tima	Seminat.	8,10	3,8		1,26	1026	Tr.
85	56n	Taranto	Mass. Vocchiaro	Seminat.	8,15	1,0		1,51	1170	Tr.
86	91n	Taranto	Mass. Feliciotta	Oliveto	8,20	12,9		1,36	848	0,1
87	95n	Taranto	Mass. Spagnuolo	Seminat.	8,25	1,2	2,35	2,20	1456	0,1
		Provincia di Brindisi								
88	66n	Fasano	Seppannibale	Seminat.	7,87	Tr.	2,12	1,54	1152	Tr.
89	987	Fasano	Selva	Oliveto	8,15	0,2		0,97	705	1,9
		Provincia di Lecce								
90	1L	S. Pietro in Lama .	Morello	Tabacco	8,20	0,2	1,54	1,38	592	Tr.
91	4L	Copertino	Vademanco	Oliveto	8,20	20,0		0,52	240	2,7

17 campioni che hanno più di 3 ppm si riscontrano i valori più elevati tra quelli che mostrano un pH più basso. Due di essi provengono da terreni di bosco e il massimo valore (21,2 ppm) col minimo pH (7,60) è tra questi due.

In sostanza si deve ritenere che le nostre terre rosse contengono solo poco Mn scambiabile, ciò in ogni caso è in rapporto al contenuto in calcare, riscontrandosi un certo contenuto in Mn scambiabile solo dove il calcare è molto ridotto.

Non si riportano indicazioni sul Mn solubile in acqua. In effetti dalle prove orientative effettuate è apparso che nei campioni esaminati la frazione in discorso è così esigua da non risultare praticamente apprezzabile, ciò evidentemente in connessione alla reazione costantemente subalcalina delle terre considerate.

Il Mn totale, dato il minore interesse, è stato determinato soltanto su 12 campioni e i risultati sono riportati sulla colonna ottava della tabella, dai quali si deduce una media di 1,45 in parti per mille. Questo valore, confrontato con quello della media dei valori che si riferiscono al Mn acidosolubile negli stessi campioni, che è di 1,26 dimostra l'esistenza — in ragione di circa il 13 % — di un certo contenuto in Mn nei minerali cristallini indecomposti, con probabilità principalmente augite e magnetite, presenti in discreta abbondanza nelle terre rosse pugliesi secondo le analisi mineralogiche del Roccati (in 32), e che lo contengono in sostituzione parziale del ferro.

6. — Conclusioni

Le terre rosse pugliesi contengono costantemente manganese e in quantità sensibilmente elevate. La maggior parte di esso trovasi allo stato di ossidi (e idrossidi) pressochè insolubili in acqua ma solubili negli acidi e in media tale frazione rappresenta l'1,11 ‰ della terra fine. Esiste pure una frazione insolubile negli acidi da ascriversi ai minerali silicati indecomposti ma essa è relativamente piccola. Gli ossidi e idrossidi indicati pur essendo insolubili in acqua si trovano in larghissima parte in forma facilmente solubilizzabile (manganese attivo); per contro il manganese scambiabile, facente cioè parte del complesso cationico assorbito, è solo contenuto in quantità piccolissime, ciò probabilmente in dipendenza del fatto che i colloidi delle terre rosse sono pressochè saturati interamente dal calcio e dai metalli leggeri. Queste due condizioni sembrano antitetiche rispetto alle necessità nutritive delle piante, ma in realtà deve ritenersi di

importanza di gran lunga prevalente la prima, se si tien conto che lievi stati di acidificazione e di riduzione giuocano liberamente nei terreni per effetto delle attività biologiche in essi svolgentisi, tra cui quelle delle stesse piante coltivate, nonchè per effetto delle ordinarie concimazioni. Le considerazioni pratiche che possono farsi discendere da quanto detto appaiono essere le seguenti:

Data l'abbondanza del contenuto in manganese delle terre rosse, nonchè la facile riducibilità degli ossidi deve ritenersi del tutto improbabile che concimazioni con sali di manganese possano manifestare un qualunque effetto sulle coltivazioni; tra l'altro, l'uso di concimi composti, oggi in qualche favore, contenenti elementi micronutritivi, accanto ai macronutritivi, per la parte che si riferisce al manganese non ha invero ragione di essere considerato nelle terre in esame, e certamente ad ogni modo non merita, se sussista, una maggiore spesa; in effetti, date le condizioni riscontrate, l'uso di concimi acidi o fisiologicamente acidi, quali già si impiegano, ha certamente effetto sufficiente alla solubilizzazione di dosi sensibili del manganese esistente nel terreno. Su questo punto può avanzarsi anzi l'ipotesi che l'azione favorevole che si riscontra con i comuni concimi acidi o fisiologicamente acidi nelle terre rosse, possa derivare, oltre che dall'apporto di elementi fertilizzanti, anche dal fatto che per effetto dell'influenza sulla reazione, maggior copia di manganese venga ad essere messa a disposizione delle colture. Considerato tutto quanto esposto, tuttavia, la possibilità che si possa avere nei terreni in discorso dei casi di malattie da carenza di manganese appare poco probabile, e anche meno probabile appare che si possano avere azioni tossiche per effetto di eccesso di manganese solubile.

RIASSUNTO

L'A., dopo aver messo in evidenza, attraverso una rassegna della principale letteratura sull'argomento, l'importanza biologica del manganese, sì per gli organismi animali che per quelli vegetali, inferiori o superiori, ha esaminato il contenuto in manganese di 91 campioni di terra rossa pugliese, tipico terreno di larga diffusione nella regione, e ciò sia per quanto riguarda il contenuto totale, come per il contenuto delle varie frazioni, secondo cui, in base agli studi sull'argomento, conviene distinguere il contenuto stesso onde poter apprezzare l'attitudine del terreno considerato a sopperire ai bisogni di manganese delle colture. Da tale esame l'A. è giunto alla conclusione che il manganese è elemento generalmente e larga-

mente rappresentato nelle terre suddette; che la forma prevalente in tali terreni è quella degli ossidi praticamente insolubili, ma facilmente solubilizzabili per effetto di azioni riducenti o acidificanti; che, tenute presenti queste condizioni, è da ritenersi inutile in tali terreni ogni apporto di manganese, sia sotto forma diretta che indiretta attraverso concimi composti; che, infine, ancora in considerazione di quanto sopra accennato, siano da ritenersi poco probabili, in tali terreni, manifestazioni patologiche in piante coltivate, sia da carenza come da eccesso di manganese.

SUMMARY

FURTHER RESEARCHES ON THE RED SOILS OF APULIA

II. Manganese content

by Luigi Della Gatta

A review is given of the principal literature on this subject, emphasizing the biological importance of manganese, either for animal organisms or for vegetable ones, lower or higher. An examination is then made of the manganese content of 91 samples of the red earth of Apulia, a type of soil largely diffused throughout this region, and thus, whether it is a question of total content or of the content of various fractions, according to which, on the basis of the studies of this subject, it is convenient to distinguish the actual content so as to be able to appraise the situation of the land considered in regard to its ability to supply the manganese need of the crop. From this examination the author reaches the conclusion that manganese is an element generally and largely represented in the above mentioned soils; that the prevalent form in such soils is that of the oxides, practically insoluble, but easily made soluble through the effect of reducing and acidifying actions; that, taking into consideration these conditions, in such soils any carrying in of manganese either in direct or indirect form by means of compost fertilizers is to be considered useless; that, finally, in consideration of the above-mentioned factors, pathological manifestations in the cultivated plants either through a lack or excess of manganese are not very likely.

APPENDICE

Procedimenti seguìti per le determinazioni analitiche

1. - Mn acido solubile. — 5 g di terra fina vengono posti in bevuta da 250 ml con 50 ml di ac. cloridrico 1 + 1. Si copre con bolla e si fa bollire un'ora a piccolo fuoco. Si fa raffreddare, si diluisce, si filtra e si lava fino a raccogliere 100 ml. Si prelevano 20 ml corrispondenti a 1 g di terra, si portano in matraccio di Kjeldahl da 250 ml, si aggiungono 5 ml di ac. solforico conc., 3 ml di acido nitrico conc. e 1 ml di acido perclorico e si fa bollire sotto cappa senza bolla fino a fumi bianchi di acido solforico. Si raffredda, si riprende con circa 20 ml di acqua precedentemente fatta bollire con un po' di periodato di K, si aggiunge circa 1 ml di acido fosforico, indi una punta di spatola di periodato di potassio e si riscalda all'ebollizione per circa un minuto dopo la comparsa della colorazione rossa dovuta al formarsi del permanganato. Si riduce a circa un quinto la potenza del fornello elettrico e si tiene sul fornello caldo circa un quarto d'ora. Si travasa in matraccio tarato da 50 o da 100 ml con collo a bicchiere, si lascia raffreddare, si porta a segno con acqua periodata e si agita. Si lascia in riposo una notte per far depositare l'eventuale precipitato, quindi si effettua la colorimetria al colorimetro fotoelettrico.

2. - Mn dagli ossidi facilmente riducibili. — 5 g di terra fina vengono posti in bevuta da 250 con 50 ml di soluzione di acetato ammonico normale neutro contenente 0,2 % di idrochinone. Si agita allo scuotitore meccanico per un'ora, si filtra e lava con soluzione di acetato ammonico (ripetendo la filtrazione del primo filtrato se torbido) fino a raccogliere 100 ml, si prelevano 40 ml corrispondenti a due g di terra, si pongono in matraccio di Kjeldahl da 250 ml, si aggiungono 4 ml di ac. solf. conc., 3 ml di ac. nitr. conc. e 1 ml di ac. perclorico e si procede come avanti. Dal valore trovato va dedotto eventualmente il Mn scambiabile e quello idrosolubile.

3. - Mn scambiabile. — 20 g di terra fine vengono posti in bevuta da 250 ml con 100 ml di soluzione di acetato ammonico normale neutro. Si agita per un'ora meccanicamente, si filtra (curando che il filtrato sia perfettamente limpido, eventualmente ripetendo la filtrazione sullo stesso filtro), si lava con soluzione di acetato ammonico fino a fare circa 200 ml, si porta tutto in matraccio Kieldahl di vetro « pirex », da 500 ml, e si fa bollire senza bolla fino ad eliminare tutta l'acqua e la maggior parte dell'acetato ammonico, poi ancora si riscalda con precauzione fino a incipiente carbonizzazione. Si fa raffreddare, si tratta con acido solf., ac. nitr. e ac. perclorico come sopra, indi con acqua periodata, ac. fosforico e periodato di potassio come avanti e si fa bollire per un minuto, tenendo poi in caldo per circa mezz'ora e aggiungendo ancora una piccola quantità di periodato se la colorazione stenta a comparire. Si fa raffreddare e si porta a volume come sopra, indi si effettua la colorimetria. Dal valore trovato andrebbe dedotto eventualmente il valore del Mn idrosolubile.

4. - Mn totale. — Contrariamente a quanto viene comunemente indicato risulta preferibile il procedimento al carbonato sodico anzichè quello all'acido fluoridrico. Si tratta in crogiuolo di platino g 0,5 di terra fine previamente ridotta in polvere

finissima con 3 g di carbonato sodico anidro e si fonde su fiamma a gas forte. Si scioglie in acqua calda, poi in acido cloridrico diluito, si porta a secco in capsula a bagnomaria, si riprende con ac. clor. conc., si lascia a sè un quarto d'ora, si filtra la silice insolubilizzata (è sufficiente fare l'insolubilizzazione una sola volta) si porta a volume, si preleva una metà del volume, si porta in Kjeldahl e si procede come precedentemente.

5. - Colorimetria. — È necessario operare col colorimetro fotoelettrico, con vaschette da 10 a 20 mm di spessore e della capacità di 6-12 ml. La curva di taratura si traccia partendo da una soluzione di permanganato di K contenente g 0,2877 di tal sale per l, ottenuta sciogliendo il permanganato in acqua precedentemente bollita con circa mezzo g per l di periodato di K. Tale soluzione è perfettamente stabile anche alla luce, e viene diluita opportunamente con acqua periodata. Nell'effettuare le misure si opera collo schermo corrispondente a circa 525 millimicron di lunghezza d'onda.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

(1) Albert, W. B. Manganese deficiency in oats at Florence. *S. Car. Agr. Exp. Stat.*, 1932, 47 : 45-58.

(2) Bertrand, G., et Medigreceanu, F. Investigation sur la quantité de Mn normalement présente dans le sang. *Ann. Inst. Past.*, 1912, 26 : 1013-1029.

(3) Bertrand, G., et Rosenblatt, M. Recherches sur la présence du Mn dans le règne végétal. *Ann. Inst. Past.*, 1921, 35 : 815-819.

(4) Bottini, O. La regione vesuviana. Studio chimico geo-agrologico. La zona alta. *Ann. Sper. Agraria*, 1933, 12 : 7-56.

(5) Bottini, O. La reazione dei terreni agrari. *L'It. Agr.*, 1947, 84 : 645-652.

(6) Bottini, O., e Giannico, E. M. La regione vesuviana. Studio chimico geo-agrologico. La zona pianeggiante. *Ann. Sper. Agr.*, 1933, 12 : 57-81.

(7) Bottini, O., e Giannico, E. M. I Campi e le Isole Flegree. Studio chimico geo-agrologico. 1937, 23 : 113-135.

(8) Bruère, P. Quantité et distribution de Mn dans le grain de froment. *Compt. Rend. Acad. Sc.*, 1934, 198 : 504-506.

(9) Ciferri, R. Qualche dato recente circa le malattie da carenza nutrizionale degli alberi fruttiferi. *Atti Ist. Bot. Un. di Pavia*, 1951, 8 : 181-203.

(10) Contino, A. Sulla quantità di Mn in alcuni terreni italiani. *Staz. Sper. Agr. Ital.*, 1911, 44 : 51-55.

(11) Cook, R. L., and Millar, C. E. Mn for oats and white beans in Michigan. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 1941, 6 : 224-227.

(12) Davies, D. W., and Jones, E. T. Gray speck disease of oats. *Welsh Jour. Agr.*, 1931, 7 : 349-358.

(13) De Varda, A., Blasi, F., Randich, G., e Sardo, P. Studio chimico-agrario dei terreni della provincia di Gorizia. *Ann. Sper. Agraria*, 1938, 28 : 5-215.

(14) De Saussure, N. Recherches chimiques sur la végetation, 1804.

(15) Fujimoto, C. K., and Sherman, G. D. Behavior of Mn in soils. *Soil Sci.*, 1948, 66 : 131-165.

(16) Gattorta, G. Ricerche sulla determinazione del Mn assimilabile nel terreno. *Ann. Sper. Agr.*, 1950, n. s., 4 : 789-800.

(17) Gerretsen, F. C. The effect of Mn deficiency on oats in relation to soil bacteria. *Rev. Appl. Mycol.*, 1935, 15 : 356-358.

(18) Gerretsen, F. C. The causes of the gray speck disease of oats. *Landb.*, 1936, 42A : 1-67.

(19) Headden, W. P. Occurrence of Mn in wheat. *U. S. Dept. Agr. Jour. Res.*, 1915, 8 : 349-355.

(20) Hendrick, J. *Agr. Progress*, 1931, 8 : 134-135.

(21) Hopkins, E. F. The necessity and function of Mn in the growth of *Chlorella* sp. *Science*, 1930, 72 : 609-610.

(22) Hopkins, E. F. Mn and the growth of *Lemma minor*. *Science*, 1931, 74 : 551-552.

(23) Iverson, V. E. Fruit cracking tomatoes influenced by applying potassium permanganate to soil. *Montana Agr. Exp. Sta. Bull.*, 1938, 362 : 3-14.

(24) Jadin, F., et Astruc, A. Occurrence du Mn dans les plantes. *Jour. Pharm. et Chim.*, 1913, 4 : 155-161.

(25) Leeper, G. W. Mn deficiency of cereals : plot experiments and a new hypothesis. *Proc. Roy. Soc. Victoria*, 1935, 47 : 225-261.

(26) Leeper, G. W. Experiments on Mn deficiency (gray speck) of cereals. *Proc. Roy. Soc. Victoria*, 1940, 52 : 138-152.

(27) Leeper, G. W. The forms and reactions of Mn in the soil. *Soil Sci.*, 1947, 63 : 79-94.

(28) Lewis, A. Spraying pea crops with solution of Mn salts to eliminate marsh spot. *Empire J. Exp. Agr.*, 1939, 7 : 150-154.

(29) Mann, P. J., and Quastel, J. H. Mn metabolism in soils. *Nature*, 1946, 158 : 154-156.

(30) Maxwell, O. G. Mn chlorosis of pineapples : its cause and control. *Hawaii Agr. Exp. Sta. Bull.*, 1924, 52 : 1-38.

(31) McHargue, J. S. The role de Mn in plants. *J. Am. Chem. Soc.*, 1923, 44 : 1592-1598.

(32) Pantanelli, E., Boccassini, U., e Brandonisio, V. Studio chimico agrario dei terreni della provincia di Bari. *Ann. Sper. Agr.*, 1937, 22 : 1-38.

(33) Petri, L. Effetti del solfato di Mn sulle piante di limoni attaccate da *Colletotrichum gloeosporioides*. *Boll. R. Staz. Pat. Veg.*, 1927, 7 : 213-214.

(34) Pichard, P. Contribution à la recherche du Mn dans les minéraux, les végétaux, les animaux. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, 1898, 26 : 1882-1885.

(35) Raffaelli, D. Il Mn nella barbabietola da zucchero e nel pomodoro. *Ann. Chim. Appl.*, 1942, 32: 31-36.

(36) Rankama, K., and Sahama, T. G. Geochemistry. Chicago, University Press, 1949.

(37) Roach, W. H. Diagnosis of mineral deficiency and excess by systematic leaf injection and analysis. *East Mall. Res. Stat. Rept.*, 1939, 51-58.

(38) Rossi, A., e Ruffo, A. Scissione dell'arginasi in apo- e co-fermento. *Ricerca Scient.*, 1940, 11: 906-912.

(39) Rossi, R. Ricerche sulle terre rosse dell'Italia meridionale. Le terre rosse del Gargano. *Ann. Tec. Agr.*, 1933, 4: 582-597.

(40) Rudra, M. N. Il compito del Mn nella sintesi biologica dell'acido ascorbico (tit. tr.) *Biochem. Z.*, 1939, 301: 238-244.

(41) Samuel, G., and Piper, C. S. Gray speck (Mn deficiency) of oats. *Jour. Dept. Agr. S. Austr.*, 1928, 31: 696-705.

(42) Scaramuzzi, G. Metodi rapidi di diagnosi delle carenze minerali del tabacco. *Il Tabacco*, 1949, 53: 131-145.

(43) Scheele, K. W. Opuscula chimica et physica. Dijon, 1774, vol. I.

(44) Sibilia, C. Malattie delle piante da cause sfavorevoli dell'ambiente. Roma, Edizioni R.E.D.A., 1945.

(45) Sherman, G. D., and Harmer, P. M. The manganous-manganic equilibrium of soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 1942, 7: 398-405.

(46) Titus, R. W., and Huges, J. S. The storage of Mn and copper in the animal body and its influence on hemoglobin building. *Jour. Biol. Chem.*, 1929, 83: 463-467.

(47) Twyman, E. S. Mn-deficient soils. *Nature*, 1944, 154: 336.

(48) Willard, H. H., and Greathouse, L. H. *Jour. Am. Chem. Soc.*, 1917, 39: 2366

Ricevuto il 7 giugno 1952.

STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Cesare Sibilia)
ROMA

Antonio Ciccarone

OSSERVAZIONI SU UN'ALTERAZIONE DEL TRIFOGLIO ALESSANDRINO CAUSATA DA *STAGONOSPORA RECEDENS* (MASSAL.) JONES ET WEIMER F. *TRIFOLII-ALEXANDRINI* N. F. E CENNI SULLA POSIZIONE SISTEMATICA DEL PARASSITA E DELLE FORME AD ESSO VICINE INTERESSANTI LE PAPILIONACEE TRIFOLIEE

Nel febbraio del 1951 il dott. Felice Lanza, della Stazione Chimico-Agraria Sperimentale di Roma, mi segnalava gravi alterazioni di probabile natura crittogamica nelle coltivazioni sperimentali di trifoglio alessandrino (*Trifolium alexandrinum* L.) istituite al Quarticciolo, nei pressi di Roma, da quella Stazione. Dallo stesso collega ottenevo poi esemplari di piante malate; e, dopo un esame preliminare, eseguivo con il prof. L. Marimpietri e con lo stesso dott. Lanza una visita alle colture, durante la quale veniva prelevato nuovo abbondante materiale. Sopraluoghi venivano anche eseguiti dal gennaio alla prima decade di marzo del 1952.



Fig. 1 – Infezioni naturali su trifoglio alessandrino. Roma, Quarticciolo, azienda del Capitolo di S. Maria Maggiore, 23–II–1952. × 2 diam.

Il trifoglio alterato presentava sulle foglie macchie di secco, sparse sul lembo e spesso marginali, in modo da simulare bruciature da freddo (fig. 1). Esse macchie erano chiare al centro, intensamente castanee al margine, dapprima subovali, poi limitate dalle nervature. In un secondo tempo, la tonalità verde di tutta la fogliola si abbassava; e le fogliole stesse ingiallivano e marcivano. Sui sottili peduncoli e sugli steli erano visibili macchie simili; ed i danni erano ivi assai più gravi ed evi-

denti per il decadere e l'avvizzire degli organi attaccati al di sopra del punto di infezione.

Mentre nelle parcelle nelle quali il trifoglio era consociato ad avena le conseguenze apparivano meno tristi, nelle altre lo sfalcio si presentava del tutto compromesso. Ivi chiazze di piante quasi distrutte nella parte epigea lasciavano quasi supporre l'intervento di parassiti radicali; supposizione che gli esami microscopico e colturale dimostrarono sempre infondata.

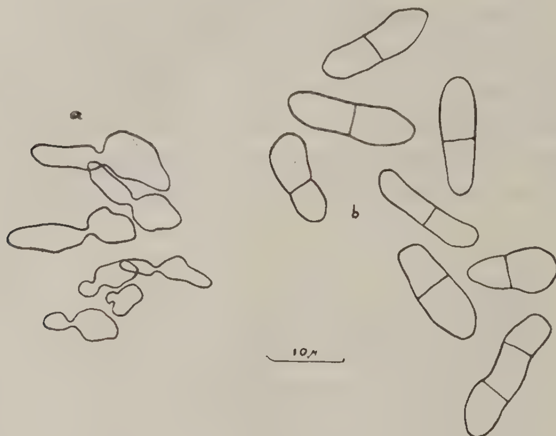


Fig. 2. – a: cellule conidiogene della parete del picnidio, osservate per schiacciamento. – b: conidi fuorusciti naturalmente da un picnidio.

Dopo 48 ore in camera umida, si notarono sugli organi alterati, in corrispondenza delle primitive macchie e poi anche al di fuori di esse, picnidi in genere sparsi, coperti dall'epidermide emisfericamente rialzata sulle due facce fogliari, sormontati nell'epifillo da una gocciola cerosa bianco-sporca poi mellea, mai rosea o rossiccia, di conidi.

All'esame microscopico i picnidi si presentarono da sferici a depressi, talora alquanto deformati dalle nervature cui si adattavano. La parete, grossa, a maturità ben definita, era molle e, nelle cellule periferiche, intensamente castanea. I picnidi, di μ 140-150 (110-180) di diametro per μ 90-150 di altezza, si aprivano nell'epifillo con un ostiolo di circa μ 25 (17-36) di diametro, non rostellato, talora appena sporgente a mo' di poro, talaltra mostrante una chiara papilla isodiametrica e fumosa. I picnidi tuttavia lasciavano spesso fuoruscire i conidi dalla parete che si rompeva lateralmente. Per probabile fusione di vari primordi furono anche osservati picnidi di forma meno regolarmente subsferica con più di un poro. I conidi jalini si presentarono densi di plasma, lungamente ovali, sub-

cilindrici o leggermente clavati, diritti o curvuli, arrotondati alle estremità, in natura per lo più bicellulari, poco o per nulla ristretti al setto, con cellula distale spesso più corta e più larga. In appresso la cellula basale più lunga subiva una seconda divisione (*Stagonosporopsis* Died.), per la quale i due setti si presentavano ravvicinati al mezzo del conidio (fig. 2 *b*).

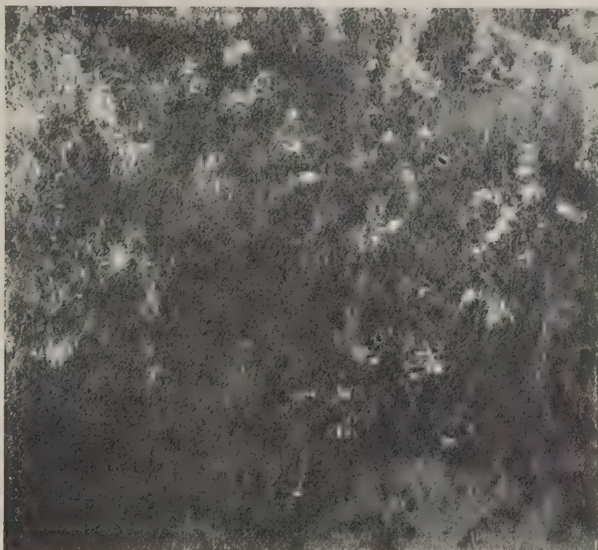


Fig. 3. - Margine di coltura su agar di Czapek-Dox con gocciole conidiche biancastre e lucenti sovrapposte ai picnidi. Semina: 31-I-1952; fotografia: 20-II-1952. La coltura si era sviluppata a temperatura ambiente (oscillante intorno ai 15 °C). × 7 diam.

In preparati per schiacciamento, i conidi si rivelarono originati direttamente dalle cellule della parete, come in *Blastophoma* Kleb. o nelle *Deuterophomaceae* di Petri (« slimy radula pycnospores ») (fig. 2 *a*); essi misuravano (50 conidi) μ 15 (10-20) × 4,5 (2,5-6,5). Tali misure furono prese in blu lattico su conidi pienamente maturi naturalmente emessi dal picnidio. Da materiale appena raccolto, mostrante infezioni in diverso grado di sviluppo, furono eseguite semine su agar saccarosio-nitrato (Czapek-Dox) dopo sterilizzazione superficiale con sublimato all'1 ‰. Si ebbero costantemente colonie (per i loro caratteri vedi tabella II) differenzianti prima al margine poi su tutta la superficie cespitoli di picnidi carbonacei, riconoscibili sul rovescio delle colonie come grossi punti neri (fig. 3), per lungo tempo immersi nel denso micelio aereo, di-

sordinatamente sovrapposti gli uni agli altri. La morfologia di questi picnidi in coltura è indefinibile. Comportamenti simili non sono nuovi, del resto, in *Ascochyta* e nei generi vicini; e di essi si trova menzione per questo gruppo in Archer (1926), in Corneli (1932), in Dennis (1946).

I picnoconidi, originantisi per gemmazione, come già si è accennato, fuoruscivano in una gocciola bianco-sporca, col tempo pallidamente mellea, mai rosea, che spingeva in alto il lasso intreccio di ife che copre la colonia, in parte superandolo ed in parte mescolandovisi. In molti di tali primordi, però, specie in quelli situati nel basso del cespitolo, entro la parete nera, carbonacea, dopo circa tre mesi a 23° C, non si è osservata traccia di conidificazione. Alla stessa epoca i conidi formatisi si presentavano di dimensioni e forma quanto mai varie, 1- o 2-cellulari. La presenza di guttule e di plasma addensato al centro delle cellule facevano ritenere però la formazione di un secondo setto arrestata e forse ancora possibile in seguito *. La difficoltà dell'osservazione era poi accresciuta in coltura dalla disarticolazione di cellule delle ife jaline e ricche di plasma del subicolo.

Prove di inoculazione

Col fungo furono eseguite inoculazioni la sera del 18 marzo 1952 su piantine trapiantate in vaso e, dopo circa 10 giorni, spruzzate con una densa sospensione di conidi prelevati da coltura conidificante (semina: 31-I-1952; prelevamento conidi: 18-III-1952) in agar di Czapek-Dox. Le piante furono tenute a temperatura di circa 20° C (temperatura regolata approssimativamente mediante stufe elettriche) per quattro giorni e mezzo sotto campana umida, nel tentativo di riprodurre le condizioni che si hanno vicino a terra in un erbaio. La sera del terzo giorno erano evidenti sulle piante inoculate maculature scure delle fogliole e dei fusticini ed un leggero appassimento delle lamine.

La mattina del quinto giorno furono tolte le campane; e le piante furono messe su un davanzale all'aperto, a luce diffusa ed in atmosfera

---

* Klebahn (1933, p. 11) afferma al proposito: «many of the species of *Phoma*, especially those reported with two oil droplets in the spores, are in reality just such cases of arrested development and under proper conditions would produce 2-celled spores». Ciò sembra poter essere esteso anche a giovani forme di *Stagonospora*, presentantisi come *Ascochyta*.



FIG. 4. – Risultati di inoculazione artificiale su trifoglio alessandrino. Al centro, testimone; ai lati, piante spruzzate con sospensioni di conidi in acqua sterile. Inoculazione: 18–III–1952; fotografia: 24–III–1952.

abbastanza secca. Esse si mostrarono avvizzite nei lembi e con gli steli piegati. I testimoni, spruzzati con acqua sterile, si mostrarono indenni (fig. 4).

Lotta

Nel 1951 la lotta si rivelò abbastanza facile. Bastò, a proposito, tagliare il prato con un certo anticipo. In tal modo il successivo taglio divenne denso allorchè la temperatura primaverile era sensibilmente salita, la vegetazione più vigorosa e l'atmosfera più secca. Non si ebbero così ulteriori danni dal parassita. Nel 1952 l'andamento meno piovoso dell'inverno non fu favorevole allo stabilirsi di infezioni economicamente importanti.

Posizione sistematica del parassita

Come è noto, gli Sferossidali jalosporei segnalati come causa di macchie fogliari e dei fusti su *Medicago*, *Trifolium* e generi vicini delle *Trifolicae* hanno dato luogo ad un'abbondante letteratura, nella quale da Jones (1918) in poi è notevole il tentativo di eliminazione delle entità specifiche insufficientemente definite con larga valutazione dei loro caratteri morfologici e soprattutto dimensionali.

In base a tali criteri, *Ascochyta imperfecta* Peck, nel senso di Toovey, Waterston e Brooks (1936), presenterebbe picnidi sparsi sulle macchie fogliari, conidi per lo più unicellulari, gocce conidiche rossicce



Fig. 5. – Coltura su stelo di erba medica in termostato a 22°-23 °C. Semina: 19-IV-1951; fotografia: 11–VII–1951. Appena ingrandita.

[« pale pink » secondo Toovey et al. (1936), « pink » secondo Sprague (1929)], crescita rapida ma soggetta a fenomeni di autoantibiosi in coltura, larga variabilità nel colore e nel comportamento generale delle colonie (in genere grigio-olivacee), aggregati cristallini dendroidici di fosfato di sodio in vecchie colture su agar di Czapek-Dox *.

A. imperfecta, oltre ad essere stata segnalata in natura come causa di gravi infezioni su *Medicago sativa*, è stata inoculata con successo su *M. lupulina*, *Trifolium pratense* (non *T. repens*) (Toovey et al., 1936), *M. hispida*, *Melilotus indica*, *M. officinalis*, *T. hybridum*, *T. pratense* (Sprague, 1929), *Medicago falcata* e *M. ruthenica* (Peterson e Melchers, 1942). Le ultime prove di Cormack (1945) sembrano tuttavia mostrare che sui *Trifolium*, anche su *T. pratense*, questa specie è poco patogena e di assai dubbia importanza in natura.

A. medicaginis Fuck. sarebbe invece sinonimo di *Sporonema phacidioides* Desm. nel senso di Jones (1918) [= *Phyllosticta medicaginis* (Fuck.) Sacc., *Gloeosporium morianum* Sacc.]. Questo fungo produce alterazioni di peculiare aspetto ed ha corpi fruttiferi sprovvisti di ostiolo, conidiofori ramificati bene evidenti (« the conidiophores have a characteristic bottle shape », Jones, 1918), masse conidiche lattiginose (« milky drops »), crescita estremamente lenta e difficile in coltura, ove il micete assume colore e aspetto particolari. Il fungo è specifico di *Medicago sativa* ed è forma metagenetica di *Pseudopeziza Jonesii* Nannf. [= *Pyrenopeziza*

---

* Con essa cadrebbero in sinonimia: *Rhabdospora (Septoria) allantoidea* (R. et C.) Sacc., secondo Jones (1918); forse *Ascochyta pisi* var. *medicaginis* Sacc. (Sprague, 1929); *Phoma medicaginis* Malbr. et Roum., *P. herbarum* f. *medicaginis* Fuck. e *Diplodina medicaginis* Oud. (Jones e Weimer, 1938). Probabilmente da riferire ad *A. imperfecta* sono anche le segnalazioni di Rosella (1929) per *A. medicaginis* Fuck. e di Corneli (1932) per *Phyllosticta medicaginis* (Fuck.) Sacc. Circa *Rhabdospora (Septoria) allantoidea* (R. et C.) Sacc., v'è tuttavia discrepanza fra le conclusioni di Toovey, Waterston e Brooks [1936, p. 713, nota (1)] e quelle di Jones e Weimer (1938, p. 806).

medicaginis Fuck., non *Pseudopeziza medicaginis* (Lib.) Sacc.]. Ad esso corrispondono sui trifogli altre specie di *Sporonema*, in rapporto con *Pseudopeziza* anche esse (*P. trifolii-arvensis* Nannf.).

A. medicaginis Bres., che era già stata distinta da *Sporonema phacidioides* e da *A. imperfecta* ad opera di Sprague (1929), di Toovey et al. (1936), veniva riesaminata da Jones e Weimer (1938) e messa in sinonimia con *Stagonospora meliloti* (Lasch.) Petrak *.

Tipici di questa *Stagonospora* sarebbero i picnidi papillati in natura o più precisamente il loro rostro, presente in natura e provvisto di canale centrale più stretto alla base che all'apice. Al suo ciclo apparterrebbe anche una forma di *Phoma* (*P. meliloti* Allescher, nel senso di Jones e Weimer), il cui rostro è evidente solo in corpi fruttiferi profondamente immersi nella matrice. E sua forma perfetta sarebbe *Leptosphaeria pratensis* Sacc. et Briard **.

Suoi ospiti sarebbero *Medicago sativa, M. lupulina, M. arabica, Melilotus alba, M. officinalis, M. dentata, Trifolium repens, T. hybridum, T. alpestre.*

Stagonospora meliloti, secondo Jones e Weimer (1938), non attaccherebbe il trifoglio pratense.

Su questa specie sarebbe invece presente un'altra *Stagonospora*, talora provvista di papilla isodiametrica, mai rostrata: *S. recedens* (Massal.) Jones et Weimer ***.

Stagonospora carpathica Bäumler sarebbe poi segnalata su *Melilotus* spp. ed avrebbe conidiofori di μ 8-10 $\times$ 2.

---

* *Stagonospora meliloti* e *S. recedens*, che sarà ricordata in appresso, sarebbero veramente da riferire, per la scarsezza dei conidi plurisettati, a *Stagonosporopsis* Died., cioè ad *Ascochyta* Lib. (Petrak, 1925).

Jørstad (1945), difatti, preferisce a *Stagonospora meliloti* la denominazione *Ascochyta compta* (Sacc.) Jørst. (i binomi precedenti sono rigettati, perchè comuni ad altre specie del genere).

Accettando *Stagonospora meliloti*, da Jones e Weimer (1938) in poi, con essa vengono posti in sinonimia i seguenti binomi: *Ascochyta affinis* Jaap, *Marsonia medicaginis* Voss., *Diplodina medicaginis* var. *phyllobia* Bub., *Gloeosporium medicaginis* Ell. et Kell., *Septoria medicaginis* Rob. et Desm., *Sphaeria meliloti* Lasch., *Septoria compta* Sacc., *Phleospora trifolii* Cav., *Septoria trifolii* Cav., *Stagonospora Dearnessii* Sacc., *Stagonospora trifolii* Ell. et Ev., *Sphaeronema Bustinzae* Unam.

Phleospora trifolii Cav. e *P. trifolii* var. *recedens* Massal. sono erroneamente riportati in Oudemans (1931, pp. 876 e 880) come *Pleospora trifolii* e *Pl. trifolii* var. *recedens*.

** = *Leptosphaeria dumetorum* Niessl, *L. dumetorum* f. *meliloti* Rehm, *L. eustoma* (Fries) Sacc. f. *major* Berl., *L. meliloti* Hollós.

*** = *Ascochyta trifolii* Bond. et Trus., *A. trifolii* Siem., *Gloeosporium trifolii* Peck, *Phleospora trifolii* Cav. var. *recedens* Massal.

Per questo, essa sembra facilmente riconoscibile.

Altre specie di qualche interesse, ma soprattutto caulicole e peziolicole, sarebbero: *Ascochyta caulicola* Laub., generante iperplasie su *Melilotus*, e *A. lethalis* Ell. et Bart. (= *Gloeosporium meliloti* Trel.), forma imperfetta di *Mycosphaerella lethalis* Stone, che fruttifica raramente sulle foglie di cui produce avvizzimento e caduta precoce. Suoi ospiti sono *Melilotus* spp. *.

Nel 1934 Dominik descriveva infine in Polonia una *Ascochyta trifolii-alpestris*, presentante conidi di μ 9-15 × 2-3 e producente macchie fogliari su *Trifolium alpestre*. Essa è distinta dalle altre specie per i conidi che si presentano con singolare uniformità acuti (*Ascochytella* Died.).

Pur notandosi in genere un largo passaggio delle specie sopra indicate dall'uno all'altro dei generi *Medicago, Melilotus, Trifolium,* nessun riferimento si è trovato di *Ascochyta, Stagonospora* o generi vicini su *Trifolium alexandrinum*, meno che nella letteratura palestinese, per la quale ci si riferirà in particolare al lavoro della Chorin (1944). Quest'autrice segnala su tale ospite una maculatura fogliare e degli steli che in tutto corrisponde a quella da me notata nei pressi di Roma, causata da una *Ascochyta* i cui picnidi misurano μ 90-150 ed i cui conidi, bicellulari, jalini, leggermente costretti al setto, arrotondati alle estremità, presentano dimensioni di μ 15-20 × 3-5. In assenza di conidi tri- o pluricellulari, l'autrice riferisce tale fungo ad *Ascochyta trifolii* Bond. et Trus. La Chorin si basa tuttavia su dati dimensionali e non considera, nel suo lavoro, *Stagonospora meliloti* (Lasch.) Petr., definita, come si è detto, da Jones e Weimer in un lavoro (1938) che pure essa cita più volte.

Si è pertanto creduto utile esaminare con attenzione il fungo ritrovato a Roma, riordinando anche nella tabella che segue, le specie che sembrano più interessanti ai fini diagnostici:

---

* Dalla letteratura precedente si apprende che *Phoma vulgaris* Sacc., *P. anceps* Sacc., *Ascochyta confusa* Bub., *A. Volkartii* Bub. sono insufficientemente descritte o del tutto «nomina nuda» (Toovey et al., 1936; Jones e Weimer, 1938); *Septoria trifolii* è probabilmente un saprofita; e *Saccothecium trifolii* (Rostr.) Kirschst. [= *Sphaerulina trifolii* Rostr., *Pleospora trifolii* (Rostr.) Petr., *Pseudoplea trifolii* (Rostr.) Petr., *Pleosphaerulina briosiana* Poll., *Pseudoplea briosiana* (Poll.) v. Höhn.], contrariamente a quanto affermato da Petrak, non ha forma imperfetta. Lo stesso dicasi di *Pseudoplea medicaginis* Miles (1925).

	Ospiti
a-picnidi non ostiolati:	
	Medicago sativa
aa-picnidi ostiolati: *b*-conidi continui:	*Trifolium arvense* e per altri *Sporonema* spp., altri *Trifolium* spp. vedi quanto è detto per *Stagonospora meliloti*
bb-conidi settati: *c*-inducenti iperplasie negli steli e nei peduncoli:	*Melilotus alba*
cc-foglicole e caulicole: *d*-non maculicole, ma causanti ingiallimento e caduta precoce delle foglie:	*Melilotus alba* e *Melilotus officinalis*
dd-maculicole: *e*-conidi acuti alle estremità [*Ascochytella* (Tassi) Died.]:	*Trifolium alpestre*
ee-conidi arrotondati alle estremità: *f*-conidiofori evidenti:	*Melilotus* sp.
ff-conidiofori non presenti: *g*-cirri, o masse conidiche, rosei o rossicci:	*Medicago sativa, M. hispida, M. lupulina, M. falcata, M. ruthenica, Melilotus indica, M. officinalis, Trifolium pratense, T. hybridum*
gg-masse conidiche biancastre: *h*-picnidi rostellati in natura:	*Medicago sativa, M. lupulina, M. arabica, Melilotus alba, M. officinalis, M. dentata, Trifolium repens, T. alpestre*
hh-picnidi non rostellati, al più papillati:	*Trifolium pratense, T. alexandrinum*

* Queste specie differiscono, per*raginis* (Lib.) Sacc. e da *Ps. trifolii* (Biv.) Sacc., che non hanno forme conidiche e sono noteannfeldt (1932) tuttavia ha trovato su *Trifolium arvense* esemplari del tipo di *Ps. med*. *Ps. Jonesii* tuttavia sviluppa la forma ascofora solo su foglie morte. Alla luce di queste citta su *Trifolium pratense* da Greene (1942).

** *Phoma oleracea* Sacc., anche e

*** *Pleospora rehmiana* (Staritz)

**** La connessione con *Saccothec*[*S*]*tagonospora* spp. con tale fungo sia stata di recente confermata, per *S. recedens*, da Chor

La tabella precedente, come si è detto, è sembrata necessaria per mettere in evidenza i caratteri che attualmente si ritengono più attendibili per l'identificazione di questi Sferossidali, gruppo confuso per la sinonimia eccezionalmente abbondante (dalla tabella e dalla descrizione precedenti è stato escluso il più dei sinonimi di carattere esclusivamente nomenclatoriale) e per la larga variabilità delle forme che lo costituiscono. Ciascuno di essi caratteri da solo, pertanto, non dà pieno affidamento (si ricorderà ad esempio il facile passaggio da *Phoma* Desm.-*Phyllosticta* Pers. ex Desm. a *Diplodina* Westend.-*Ascochyta* Lib., *Ascochytella* (Tassi) Died., *Ascochytula* (Poteb.) Died., *Stagonosporopsis* Died., *Stagonospora* Sacc., ecc.) [vedasi al proposito in Dennis (1946)].

Il fungo osservato, per l'assenza di conidiofori e di rostelli in natura, la patogenicità, la definita attività maculicola, la forma, le dimensioni e il numero dei setti dei conidi, sembrerebbe ravvicinabile a *Stagonospora recedens* (Massal.) Jones et Weimer; determinazione che verrebbe a coincidere con quella della Chorin (1944). *Ascochyta trifolii* Bond. et Trus, è infatti sinonimo — e, per quanto si è detto a p. 467, nota *, forse da adottare — di *S. recedens*.

Si ritenne però utile il confronto del fungo in esame con colture e con exsiccata delle due specie sopra menzionate. Purtroppo, nonostante il gentile interessamento del Dr. E. W. Mason, del Commonwealth Mycological Institute di Kew, si potettero esaminare solo exsiccata di *Stagonospora recedens* *; ed essi non furono di molto aiuto.

Colture di ambedue le specie furono ottenute dal Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn; ma coltivate su agar-patate-destrosio, su agar di farina di granoturco, su agar di farina di fagioli, su agar-saccarosio-nitrato (Czapek-Dox), su steli di medica e trifoglio pratense, non dettero organi di fruttificazione.

Il fungo isolato da trifoglio alessandrino e quelli inviati da Baarn furono allevati su agar-saccarosio-nitrato in parallelo in termostato a

* I due exsiccata consultati in proposito furono:

— Ex Herbarium I.M.I., nfl 21805.

Fungi columbiani. E. Bartholomew. 4538. *Gloeosporium Trifolii* Peck. 1880; *33rd Report N. Y. State Mus.*, p. 26. On *Trifolium pratense* L. London, Ont., Canada, July 1914, J. Dearness.

— Ex Herbarium mycologicum romanicum, Prof. Dr. Tr. Săvulescu. *Stagonospora meliloti* (Lasch.) Petrak, Myc. Not. in *Ann. Mycol.*, XVII, 66 (1919). A se vedea sinonimiile in Herb. Myc. Rom., fasc. XIII, distr. Turda-Câmpia-Turzii. 4-VI-1942.

Pe frunze de *Trifolium pratense* L.	Sur feuilles de *Trifolium pratense* L.
picnidi: 80-150 µ diam.	pycnides: 80-150 µ diam.
picnosporii: µ 13-18,5 × 4,5-5	pycnospores: µ 13-18,5 × 4,5-5

leg. et det. E. Radulescu; rev. Tr. Săvulescu.

22° C. Essi furono esaminati dopo 10 e dopo 60 giorni con i risultati che seguono (le prove furono eseguite in duplicato):

	Diametro medio delle colonie	Caratteri delle colonie al decimo giorno	Caratteri delle colonie dopo due mesi
Fungo da trifoglio alessandrino	cm 3,95	micelio aereo lanoso-cotonoso. Colonia subcircolare nel contorno generale, ma con margine sfrangiato. Rovescio biancastro con punti scuri sparsi, di circa mm 0,5 di diam. (primordi picnidici).	la colonia presenta micelio aereo ancora abbondante, ma già appiattito sul substrato. I cespitoli picnidici emergono specie al margine. Il rovescio è nerastro al margine [517-518 di Séguy (1936)]. Al centro abbondano punti isolati scuri.
Stagonospora meliloti	cm 0,57	nessun micelio aereo. Tracce di micelio a ventaglio intorno all'inoculo bianco con leggerissima sfumatura rosea.	la colonia si presenta quasi completamente sommersa, composta di grossi sinnemi dendroidei di ife grossolanamente raggianti, di colore isabella-incarnato [circa 204 di Séguy (1936)]. Nelle colonie di circa un anno si ha un compatto stroma centrale, sollevato e di tonalità più intensa.
Stagonospora recedens	cm 2,04	nessun micelio aereo. Colonia raggiante data prevalentemente da micelio repente e poco sommerso; margini alquanto ramificati. Tonalità salmone [circa 200 di Séguy (1936)].	la colonia si presenta di tonalità all'incirca incarnata, perifericamente glabra, ma con un basso feltro sull'inoculo e con filamenti sommersi abbondanti, profondi, ma indistinti. In seguito il colore si intensifica; e la superficie, del tutto aderente al mezzo di coltura, assume tonalità di robbia [circa 253 di Séguy (1936)].

I caratteri colturali, che il fungo isolato al Quarticciolo ha costantemente mostrato, durante oltre un anno di coltura e ripetute serie di isolamenti eseguiti in questi ultimi due inverni, sono sembrati tanto diversi da quelli di *Stagonospora recedens* e *S. meliloti* (per i quali si è natural-

mente ricorso anche alle descrizioni della letteratura precedente), da ritenere opportuno di dare agli studiosi la possibilità di identificarlo nel futuro.

E, poichè in natura il fungo non ha mai mostrato stati ascofori o rostelli, si è creduto di poterlo provvisoriamente considerare come una nuova forma di *Stagonospora recedens*, con i caratteri che seguono:

Stagonospora recedens (Massal.) Jones et Weimer f. ***trifolii-alexandrini*** n. f.

A typo differt: coloniis in agaro saccharosio-nitrico (Czapek-Dox) rapide crescentibus et late effusis, mycelio aereo copioso, laneolo donatis, supra albicantibus, infra — ubi caespitula pycnidiorum oriuntur — punctulatim fuscis, dein mycelium aereum depressum et tonalitatem aterculam (517-518 Séguy) initio marginalem ostendentibus.

Hab. In foliis, petiolis et caulibus Trifolii alexandrini *L., Romae, Quarticciolo, hieme et vere 1951-1952.*

Exsiccata e colture del fungo sono conservati presso la Stazione di Patologia vegetale in Roma.

Se il confronto con exsiccata e con colture tipiche ha portato a questi risultati, d'altro canto le stesse osservazioni e la compulsazione della letteratura precedente portano a chiedersi: è soddisfacente la sistematica sopra riassunta di questi funghi?

Data l'inattendibilità dei diversi caratteri morfologici, culturali e in genere biologici, denunziati dai diversi autori, *Stagonospora meliloti* e *S. recedens* sono discriminabili, perchè in natura *S. meliloti* presenta ben definiti rostelli, con lume più ristretto alla base che all'apice. Gli stessi autori però, nel cui senso è in genere accettata l'attuale sistemazione delle due specie (Jones e Weimer, 1938), serenamente fanno osservare che « l'altezza di questo rostro varia nei picnidi di una stessa macchia fogliare e quando è corto diviene poco caratteristico » (« its flaring character is not prominent ») (Jones e Weimer, 1938, pp. 799-800). Poco appresso essi aggiungono che, quando il fungo si presenta come *Phoma*, « il picnidio si differenzia nel tessuto parenchimatico esterno dello stelo e dove questo è sottile, su piccoli rami, il collo di molti picnidi è così corto da non essere di interesse » (« is so short that it has no noteworthy character »). Perchè lo sviluppo del rostro sia evidente è dunque necessaria l'origine profonda del picnidio (« Wherever the origin of the pycnidium is deep enough... ») (Jones e Weimer, 1938, p. 800). L'attendibilità del carattere sembra poi dover essere considerata con prudenza anche perchè in *S. recedens*, tipicamente priva di rostro « alcuni picnidi hanno corte papille isodiametriche, descritte dagli autori, ma non tipiche come quelle di *S. meliloti* » (Jones e Weimer, 1938, p. 807).

Gli stessi autori hanno poi messo in evidenza che *S. recedens* sarebbe stata riscontrata solo su *Trifolium pratense*, mentre *S. meliloti* sarebbe polifaga entro i generi *Trifolium, Melilotus, Medicago*. Sembra interessante ricordare al proposito che tutti gli ospiti di *S. meliloti* hanno numero cromosomico basico n = 8, mentre *T. pratense* ha n = 7; differenza che, come è noto, è ragione di intersterilità *. Dell'isolamento riproduttivo di questo trifoglio rispetto alle altre specie del genere potrebbero aver risentito mediatamente nella loro morfologia anche i parassiti allopatrici che sul genere si sono adattati.

RIASSUNTO

Viene descritta una maculatura fogliare del *Trifolium alexandrinum* L., osservata negli inverni 1950-1951 e 1951-1952 nei pressi di Roma.

Il parassita, isolato costantemente dalle aree lese, fu inoculato con risultato positivo su trifoglio alessandrino, mediante irrorazione di sospensioni di conidi in acqua sterile.

E nel campo si arrestò facilmente l'alterazione falciando gli appezzamenti ammalati. La nuova vegetazione difatti ridivenne densa quando la primavera era ormai avanzata e l'atmosfera generalmente più secca.

Viene riassunta la letteratura precedente relativa a *Ascochyta, Stagonospora* e generi affini interessanti le *Papilionaceae Trifolieae* e viene discussa nei rapporti reciproci la posizione sistematica di *Stagonospora recedens* e *S. meliloti*, che si ritiene forse non del tutto soddisfacente.

Per il fungo, viene provvisoriamente istituita una nuova forma: *Stagonospora recedens* (Massal.) Jones et Weimer f. *trifolii-alexandrini* n. f

---

* Mancano purtroppo dati cariologici relativi al trifoglio alessandrino.

Recentemente Mayr (1948) affermava al proposito: « Le specie sono unità naturali identificabili per il loro isolamento riproduttivo da altre unità simili. La specie del tassonomo, per quanto basata su criteri morfologici, è una semplice induzione (« inference ») dalla specie in natura. Ogni qualvolta si è in dubbio sul rango specifico di una popolazione naturale, l'analisi delle differenze morfologiche dovrà essere completata da uno studio delle differenze ecologiche e dell'entità dell'isolamento riproduttivo ».

SUMMARY

OBSERVATIONS ON A DISEASE OF THE BERSEEM (*TRIFOLIUM ALEXANDRINUM* L.) CAUSED BY *STAGONOSPORA RECEDENS* (MASSAL.) JONES AND WEIMER F. *TRIFOLII-ALEXANDRINI* N. F., AND CONSIDERATIONS ON THE SYSTEMATIC POSITION OF THE PARASITE AND OF THE RELATED FORMS WHICH AFFECT THE PAPILIONACEAE TRIFOLIEAE

by ANTONIO CICCARONE

In this paper a leaf spot of berseem (*Trifolium alexandrinum* L.) is described. The disease was very serious in some experimental plots located near Rome, during the winters 1950-1951 and 1951-1952.

A *Stagonospora*, consistently isolated from the diseased tissues, was successfully inoculated on berseem by spraying spore suspensions in sterile water.

The disease was controlled by mowing the diseased patches of the field. This way, a dense stand was again obtained when spring temperatures had already set in and the atmosphere was drier.

The author discusses the literature referring to *Ascochyta*, *Stagonospora* and related genera most commonly found on the Papilionaceae Trifolieae. The characters of *Stagonospora recedens* and *S. meliloti* are then examined and it is concluded that the discrimination between these two species is perhaps not yet completely satisfactory.

The fungus on *T. alexandrinum* is provisionally considered as a new form: *Stagonospora recedens* (Massal.) Jones and Weimer f. *trifolii-alexandrini* n. f.

LAVORI CITATI

ARCHER, W. A. Morphological characters of some Sphaeropsidales in culture. *Ann. Mycol.*, 1926, XXIV, 1-83.

CHIPPINDALE, H. G. The development in culture of *Ascochyta gossypii* Syd. *T.B.M.S.*, 1929, XIV, 201-215.

CHOCHRIAKOV, M. K. Mycological notes. I. (Riassunto in francese). *Bull. Pl. Protection*, Leningrad, 1932, V, 125-129.

Chorin, M. Leaf and stem spot of Egyptian clover. *Palestine Journ. Bot., Rehovot Series*, 1944, IV, 175-178.

Ciferri, R. Tipo medio ideale od olotipo effettivo in ampelografia? *Riv. Vitic. Enol.*, Conegliano, 1951, n. 4, estratto di 6 pp.

Cormack, M. W. Studies on *Ascochyta imperfecta*, a seed- and soil-borne parasite of alfalfa. *Phytopath.*, 1945, XXXV, 838-854.

Corneli, E. Sopra una grave alterazione della medica prodotta da *Phyllosticta medicaginis* Fuck. a Perugia. *Riv. Pat. veg.*, 1932, XXII, 51-58.

Darlington, C. D., and Janaki Ammal, E. K. Chromosome atlas of cultivated plants. London, Allen and Unwin, 1945, 397 pp.

Dennis, R. W. G. Notes on some British fungi ascribed to *Phoma* and related genera. *T.B.M.S.*, 1946, XXIX, 11-42.

Dickson, J. G. Diseases of cereal and forage crop plants. Minneapolis, Burgess, 1939, 259 pp.

Dominik, T. Micromycetum species novae in Polonia occidentali lectae. *Acta Soc. Botan. Poloniae*, 1934, XI, 241-246.

Goidànich, G., e Ruggieri, G. Le *Deuterophomaceae* di Petri. *Ann. Sper. Agr.*, 1947, n. s., I, 37-54.

Greene, H. C. Notes on Wisconsin parasitic fungi. II. *Trans. Wisc. Acad. Sc., Arts, Letrs.*, 1942, XIV, 83-98 (*R.A.M.*, 1943, XXII, 409).

Grove, W. B. British stem and leaf fungi. Cambridge Univ. Press, 1935-1937, 2 vols.

Jones, F. R. Yellow-leaf blotch of alfalfa caused by the fungus *Pyrenopeziza medicaginis*. *Journal Agr. Res.*, 1918, XIII, 307-329.

Jones, F. R., and Weimer, J .L. *Stagonospora* leaf-spot and root rot of forage legumes. *Journal Agr. Res.*, 1938, LVII, 791-812.

Jørstad, J. Parasittoppene på kultur-og nyttevekster i Norge. I. Sekksporesopper (*Ascomycetes*) og Konidiesopper (*Fungi Imperfecti*). *Meld. Stat. Plantenpatol. Inst.*, Oslo, 1945, Nr. 1, 142 pp.

Horsfall, J. G. A study of meadow-crop diseases in New York. *Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Mem. 130*, 1929, 137 pp.

Klebahn, H. Ueber Bau und Konidienbildung bei einigen stromatischen Sphaeropsideen. *Phytopath. Zeitschr.*, 1933, VI, 229-304.

Mason, E. W. Annotated account of fungi. List II, Fasc. 3. I.M.I., Kew, 1937, 89-91.

Mayr, E. The bearing of the new systematics on genetical problems. The nature of species. Adv. in Genetics, II, New York, Ac. Press, 1948, 205-237.

Miles, L. E. A pyrenomycetous leaf-spot of bur-clover. *Phytopath.*, 1925, XV, 677-690.

Nannfeldt, J. A. Studien über die Morphologie und Systematik der nicht-lichenisierten inoperculaten Discomyceten. Uppsala, Norblads, 1932, 368 S.

Oudemans, C. A. J. A. Enumeratio systematica fungorum. Den Haag, 1931, Vol. III, p. 1313.

Peterson, M. L., and Melchers, L. E. Studies on black stem of alfalfa caused by *Ascochyta imperfecta*. *Phytopath.*, 1942, XXXII, 590-597.

Petrak, F. Ueber *Stagonospora compta* (Sacc.) Died. *Ann. Mycol.*, 1919, XVII, 64-66.

Petrak, F. Ueber *Ascochyta Boltshauseri* Sacc. *Ann. Mycol.*, 1921, XIX, 20-21.

Petrak, F. Mykologische Notizen. *Ann. Mycol.*, 1925, XXIII, 1-143.

Petrak, F. Kritische Bemerkungen über einige, in letzen Zeit als neu beschriebene Askomyceten und Fungi Imperfecti. *Sydowia*, 1947, I/III, 61-79.

Petri, L. Alcune considerazioni sopra i generi *Deuterophoma* e *Blastophoma*. *Phytopath. Zeitschr.*, 1934, VII, 117-119.

Rosella, E. Observations sur l'*Ascochyta* de la luzerne. *Rev. Path. vég. Entom. agric.*, 1929, XVI, 226-229.

Séguy, E. Code universel des couleurs. Paris, Lechevalier, 1936, 68 p. + 720 coul.

Sprague, R. Host range and life history studies of some leguminous *Ascochytae*. *Phytopath.*, 1929, XIX, 917-932.

Thom, C. Molds, mutants and monographers. *Mycologia*, 1952, XLIV, 61-85.

Tischler, G. Die Chromosomenzahlen der Gefässpflanzen Mitteleuropas. Gravenhage, W. Junk, 1950, 263 pp.

Toovey, F. W., Waterston, J. M., and Brooks, F. T. Observations on the black-stem disease of lucerne in Britain. *Ann. Appl. Biol.*, 1936, XXIII, 705-717.

Ricevuto il 9 giugno 1952.

ISTITUTO DI CHIMICA AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ
(Direttore: Carlo Ferrari)
BOLOGNA

CARLO FERRARI

SUL MICRO-DOSAMENTO FOTOMETRICO DELL'ACIDO FOSFORICO MINERALE IN PRESENZA DI ESTERI FOSFORICI *

Il dosamento dell'acido fosforico minerale in presenza di esteri fosforici (cioè del così detto « fosforo organico ») presenta notevole interesse sia nel campo biochimico che in quello pedologico, perchè molte soluzioni naturali di origine vegetale o animale e molti liquidi di estrazione, per esempio di terreni, contengono spesso i fosfati in parte sotto forma minerale e in parte esterificati.

La determinazione della frazione minerale in presenza degli esteri è particolarmente delicata nel caso in cui si debbano dosare piccolissime quantità di acido fosforico e si voglia impiegare il metodo micro-chimico che conduce al « bleu di molibdeno fosforato », perchè, come è ben noto, la reazione su cui si fonda deve venir eseguita in ambiente acido e non è istantanea: i procedimenti più usati prescrivono di operare a freddo e di ridurre il più possibile l'intervallo di tempo tra la mescolanza dei reattivi e la lettura fotometrica per evitare o limitare l'idrolisi degli esteri fosforici.

Quando nel campione in esame sia presente anche della silice solubile, occorre tener conto dell'interferenza che questa può esercitare sul dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico minerale, perchè, come è ben noto, l'acido silico-molibdico che eventualmente potesse formarsi viene ridotto a « bleu di molibdeno siliciato » nelle condizioni in cui l'acido fosfo-molibdico viene ridotto a « bleu di molibdeno fosforato ». Talvolta questa interferenza può assumere un'entità tale da falsare completamente i risultati: basti qui accennare al caso degli estratti acquosi di terreno che contengono sovente, accanto a piccolissime quantità di acido fosforico minerale, delle quantità relativamente enormi di silice solubile. Il problema della eliminazione di questa grave interferenza è stato già affrontato e risolto (8).

* Lavoro eseguito con una sovvenzione del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste.

Per evitare o contenere in limiti modesti l'idrolisi degli esteri fosforici, la maggior parte degli autori adotta la tecnica analitica proposta nel 1925 da Fiske e Subbarow (9) portandovi talvolta qualche leggera modifica. Come è noto, questi autori impiegano come riducente del complesso fosfo-molibdico una soluzione in bisolfito e solfito di sodio dell'acido 1.2.4. aminonaftol-solfonico e prescrivono di eseguire la misura fotometrica dopo 5-10 minuti dall'aggiunta del riducente, mantenendo la soluzione a temperatura ambiente. I risultati che si ottengono col procedimento proposto da Fiske e Subbarow sono soddisfacenti soltanto a patto che vengano scrupolosamente seguìte tutte le norme di lavoro prescritte e si abbia cura di effettuare prove di confronto con soluzioni di titolo noto preparate contemporaneamente alle prove in esame.

Recentemente Lowry e Lopez (10) hanno elaborato una tecnica analitica che consente di applicare la ceruleo-molibdimetria al dosamento dell'acido fosforico minerale anche quando nella soluzione siano presenti degli esteri fosforici talmente labili da venir idrolizzati, a freddo, dall'acidità solforica del reattivo di Fiske e Subbarow.

Il procedimento proposto da Lowry e Lopez si fonda su di un interessante fenomeno che era già stato osservato e descritto da chi scrive (3), che però non l'aveva utilizzato ai fini analitici: quando soluzioni di molibdato d'ammonio contenenti una determinata quantità di questo sale (corrispondente, ad esempio, a mg 60 di MoO_3), convenientemente diluite con acqua, si acidifichino con quantità crescenti di H_2SO_4 N (per esempio, da 1 a 25 cc) e si faccia poi agire un riducente (per esempio il solfato di idrazina, a caldo) si nota che il così detto « bleu di molibdeno puro » * comincia a formarsi quando la quantità di H_2SO_4 N raggiunge un determinato limite (circa 1 cc), cresce notevolmente e in modo molto rapido nelle prove contenenti maggiori quantità di acido (fino a circa 4-5 cc di H_2SO_4 N) per diminuire nuovamente in modo rapido, fino ad annullarsi, nella prova in cui la quantità di H_2SO_4 N raggiunge i 25 cc.

In quanto precede è implicita la conseguenza che è possibile evitare la formazione del « bleu di molibdeno puro » non solo acidificando convenientemente la soluzione con la quantità minima di acido solforico sopra detta (25 cc) ma anche acidificando la soluzione di molibdato della detta concentrazione con quantità di H_2SO_4 N inferiori a 1 cc. In questo caso il pH delle soluzioni è naturalmente molto più alto di quello delle solu-

* Ossido salino bleu costituito di pentossido di molibdeno combinato con l'acido molibdico, che è stato denominato « bleu di molibdeno puro » per distinguerlo dai bleu di molibdeno fosforato, siliciato e arsenicato.

zioni in cui l'impedimento alla formazione del bleu di molibdeno puro è stato ottenuto con almeno 25 cc di H_2SO_4 N.

Il procedimento di Lowry e Lopez si fonda appunto sulla formazione del « bleu di molibdeno fosforato » ai pH relativamente alti ai quali si può operare evitando ugualmente la formazione del bleu di molibdeno puro ed evitando altresì, o almeno contenendo in limiti modesti, la saponificazione degli esteri fosforici, anche se questi sono labili.

Poichè ai pH intorno a 4 il riducente di Fiske e Subbarow non è in grado di agire, Lowry e Lopez hanno proposto di usare una soluzione di acido ascorbico, riducente che altri aveva già impiegato nella ceruleo-molibdimetria (1).

Il procedimento proposto da Lowry e Lopez può rappresentare un miglioramento rispetto alla tecnica di Fiske e Subbarow: quando lo si adotti occorre, però, tenere conto dell'interferenza che può esercitare la silice solubile, dato che la formazione dell'acido silico-molibdico nelle condizioni di debole acidità non è inibita come lo è invece nelle condizioni di netta acidità, attraverso il meccanismo ampiamente studiato in altra nota (6). Lowry e Lopez hanno fissato in mg 0,5 % la quantità massima di silicato che può essere tollerata.

Dunque la formazione dell'acido fosfo-molibdico e la sua riduzione a bleu di molibdeno fosforato possono venir effettuate, a freddo, sia nelle condizioni di netta acidità solforica — analogamente a quanto hanno proposto Fiske e Subbarow — purchè gli esteri fosforici presenti non siano facilmente idrolizzabili, sia nelle condizioni di debole acidità — secondo il procedimento proposto da Lowry e Lopez — quando siano presenti esteri fosforici labili.

Come è stato dimostrato in un recentissimo studio spettrofotometrico sul bleu di molibdeno fosforato (7), il bleu che si produce, a freddo, nelle condizioni di netta acidità subisce una graduale modificazione col passare del tempo: la sua curva di colore tende a divenire uguale a quella che si ottiene effettuando il riscaldamento della soluzione su bagno-maria bollente per pochi minuti.

Si è ritenuto allora di attribuire questo fenomeno a una specie di « assestamento » del colore il quale condurrebbe al prodotto bleu con curva definita e costante di colore che sarebbe il solo utilizzabile per misure fotometriche « assolute » e precise.

Sulla base dei fatti esposti nella citata nota sembra doversi ammettere che questo bleu di molibdeno fosforato con curva definita e costante di colore si produca in due fasi, le quali sono nettamente percepibili quando

si operi a freddo perchè i processi propri di ciascuna fase hanno velocità sensibilmente diversa. Come si è detto, quando si operi a caldo, le due fasi si compiono in modo pressochè simultaneo: bastano pochi minuti di riscaldamento su bagno-maria bollente per ottenere il bleu con curva definita e costante di colore.

La prima fase consiste nella « riduzione » dell'acido fosfo-molibdico e conduce a prodotti bleu che possiedono curve di colore le quali subiscono modificazioni col passare del tempo. La seconda fase consiste nell'« assestamento » di tali colorazioni instabili e conduce al bleu di molibdeno fosforato con curva definita e costante di colore.

Le colorazioni bleu che si ottengono nell'intervallo di tempo tra la fine della riduzione e il momento in cui si sia prodotto l'assestamento definitivo del colore sono quindi « instabili » e la loro utilizzazione a scopo quantitativo può essere ammessa soltanto a patto che le prove vengano sempre effettuate per confronto con soluzioni di titolo noto e di composizione il più possibile uguale a quella del campione in esame trattate contemporaneamente con le stesse quantità di reattivi: solo operando in tal modo si può ritenere che, trascorso il tempo che è stato scelto come più conveniente per assicurare il compimento della fase di « riduzione », il colore bleu che si è prodotto nella prova in esame e quelli che si sono prodotti nelle soluzioni di titolo noto abbiano raggiunto stadî di assestamento il più possibile uguali — ai quali corrispondono curve di colore il più possibile identiche — poichè l'assestamento procede con velocità variabile in dipendenza di vari fattori. Solo rispettando tali condizioni le misure fotometriche possono offrire un grado di esattezza sufficiente.

Per evitare la laboriosa preparazione delle soluzioni standard e per consentire misure « assolute » molto precise sfruttando l'alto grado di perfezione oggi raggiunto dai fotometri, nel citato studio (7) si è consigliato di determinare l'assestamento del colore, operando a caldo, nella convinzione che il bleu con curva definita e costante di colore sia il solo utilizzabile per determinazioni « assolute » e precise. Il riscaldamento può venir eseguito impunemente quando nella soluzione siano presenti soltanto fosfati minerali.

Ricerche ulteriori hanno mostrato che il grado di acidità giuoca un ruolo di primo piano sulla velocità dei processi che si compiono nelle due fasi sopra menzionate e cioè sulla velocità di « formazione » del bleu di molibdeno fosforato (che consiste essenzialmente nella « riduzione » parziale dell'acido fosfo-molibdico) e su quella del suo « assestamento ». Si è constatato: 1) che la fase di « riduzione » è tanto più lenta quanto

maggiore è il grado di acidità *; 2) che, una volta ultimata la riduzione, la fase di « assestamento » del colore avviene invece con velocità tanto più grande quanto maggiore è il grado di acidità; 3) che la curva di colore che si ottiene al punto finale è praticamente identica entro l'intervallo di netta acidità solforica che si prescrive normalmente per impedire la formazione del bleu di molibdeno puro. Come si è detto, è opportuno produrre a caldo l'assestamento finale per essere certi di raggiungere in ogni caso il bleu di molibdeno fosforato con curva definita e costante di colore.

L'influenza esercitata dal grado di acidità sulla velocità dei processi che si compiono nelle due fasi assume un'importanza particolare quando si operi in condizioni di debole acidità, analoghe a quelle proposte da Lowry e Lopez: quando si operi a pH intorno a 4 o superiori e l'impedimento alla formazione del « bleu di molibdeno puro » si sia ottenuto approfittando del fenomeno descritto al principio di questa nota, si constata che la fase di riduzione è molto più rapida di quando si operi in condizioni di netta acidità, in accordo con quanto è stato detto più sopra al punto 1: si può ammettere che l'aumento della velocità di formazione del bleu dipenda, oltre che dalla maggiore facilità con cui la forma incolora dell'acido fosfo-molibdico si trasforma nella gialla nelle condizioni di debole acidità, anche dal fatto ben noto che l'acido ascorbico si ossida con maggiore velocità con l'aumentare del pH.

La fase di « assestamento » del bleu di molibdeno fosforato ottenuto nelle condizioni di debole acidità avviene invece in modo molto lento, in armonia con quanto si è detto più sopra al punto 2). La curva di colore subisce in questo caso un « assestamento » soltanto parziale in quanto l'estinzione in corrispondenza delle maggiori lunghezze d'onda raggiunge valori sensibilmente inferiori a quelli che si ottengono in condizioni di netta acidità, a pari contenuto di acido fosforico delle soluzioni. Anche in questo caso l'entità dell'« assestamento » dopo un tempo determinato dipende dal pH e dalla temperatura, però il riscaldamento non consente di ottenere il bleu di molibdeno fosforato con curva definita e costante di colore che si ottiene, come si è detto, in pochi minuti a caldo nelle condizioni di netta acidità: se il riscaldamento viene prolungato notevolmente si assiste alla parziale o totale decolorazione della soluzione.

---

* Ciò potrebbe dipendere dal fatto, messo in evidenza nella citata nota (7), che l'aumento dell'acidità determina un sensibile spostamento dell'equilibrio esistente in soluzione tra le due supposte forme — gialla e incolora — dell'acido fosfo-molibdico verso quest'ultima forma e quindi dal rallentamento che subisce il ripristino della forma gialla a mano a mano che questa viene ridotta a bleu dai riducenti tipo acido ascorbico che sono in grado di agire soltanto sulla forma gialla dell'acido fosfo-molibdico.

L'esiguità delle variazioni che la curva di colore subisce ai pH alti nei primi minuti dalla mescolanza dei reattivi, conseguenza della lentezza del processo di « assestamento » del colore nelle condizioni di debole acidità, può aver fatto ritenere che la reazione cromatica fosse terminata e spiega la prescrizione di Lowry e Lopez di eseguire la lettura fotometrica dopo 5-10 minuti. Invece la curva di colore si modifica, sia pure lentamente, col passare del tempo e quindi l'entità dell'estinzione in corrispondenza della lunghezza d'onda scelta per le misure fotometriche varia col passare del tempo, analogamente a quanto si è verificato che avviene nelle condizioni di netta acidità: questa variazione della curva di colore vieta, anche in questo caso, di effettuare misure « assolute » e precise e impone di operare sempre « per confronto » con soluzioni di titolo noto e di composizione il più possibile uguale a quella del campione in esame, nelle quali la reazione cromatica sia fatta avvenire nell'identico modo e contemporaneamente alla prova effettuata sul campione stesso: infatti non è possibile prevedere quale sarà l'andamento della curva di colore dopo un tempo determinato essendo la velocità di « assestamento » sensibilmente influenzata, oltre che dalla temperatura, dal pH della soluzione e da altri fattori.

Le colorazioni bleu che si ottengono a freddo, tanto nelle condizioni di netta acidità quanto nelle condizioni di debole acidità sono quindi instabili e corrispondono a stadî di assestamento intermedi tra il prodotto bleu che si ottiene al termine della riduzione e quello che corrisponde al bleu di molibdeno fosforato definitivamente « assestato » o, meglio, a mescolanze di tali prodotti.

Per poter effettuare misure fotometriche « assolute » e precise è quindi necessario produrre l'« assestamento » definitivo del colore anche quando la fase di « riduzione » venga effettuata ai pH alti allo scopo di evitare o comunque contenere l'idrolisi degli esteri fosforici.

Quando si operi in queste condizioni di debole acidità e la soluzione in esame contenga anche della silice solubile, la produzione del bleu con curva definita è poi indispensabile per poter applicare la tecnica di lavoro che verrà descritta più avanti: essa permette di stabilire se vi sia stata interferenza da parte della silice solubile e, in caso affermativo, di misurarne esattamente l'entità.

La necessità di produrre l'assestamento si presenta anche nei casi nei quali si abbia ragione di prolungare notevolmente il tempo che intercorre tra la mescolanza dei reattivi e la misura fotometrica perchè allora le modificazioni che spontaneamente si producono nella curva di colore porterebbero ad errori di notevole entità.

Per accelerare il raggiungimento del punto finale è sufficiente scaldare su bagno-maria bollente la soluzione bleu ottenuta a freddo in condizioni di netta acidità ed è invece necessario far precedere al riscaldamento una conveniente aggiunta di acido solforico se la soluzione bleu era stata ottenuta, a freddo, nelle condizioni di debole acidità.

È evidente che questo riscaldamento in ambiente nettamente acido determina inevitabilmente una idrolisi degli esteri fosforici, che può anche essere totale.

Per poter effettuare impunemente il riscaldamento è necessario impedire nel modo più rigoroso che l'acido fosforico che si libera nell'idrolisi degli esteri possa formare nuovo acido fosfo-molibdico perchè questo verrebbe immediatamente ridotto a bleu di molibdeno fosforato dall'eccesso di riducente, specie a caldo.

I risultati di esperienze ampiamente illustrate nella citata nota (7) indicano la via che è consigliabile seguire per evitare la detta, gravissima interferenza.

È stato allora dimostrato:

1) che è possibile, mediante convenienti aggiunte di acido solforico ai liquidi bleu in cui la riduzione non sia ancora completa, demolire il complesso fosfo-molibdico non ancora ridotto;

2) che l'aggiunta delle dette quantità di acido solforico rimane invece senza effetto decomponente se viene fatta quando la riduzione dell'acido fosfo-molibdico a bleu di molibdeno fosforato deve ritenersi completa, anche se la curva di colore non abbia ancora raggiunto il definitivo « assestamento »;

3) che è possibile effettuare il riscaldamento necessario per accelerare il raggiungimento dell'assestamento finale, purchè prima del riscaldamento si abbia cura di acidificare con acido solforico nella misura opportuna per demolire l'acido fosfo-molibdico non ancora ridotto ovvero per impedire la formazione di nuovo complesso fosfo-molibdico, senza influire sul bleu di molibdeno fosforato già formato, anche se questo si trovi eventualmente in via di « assestamento ».

In base a questi fatti si consiglia di produrre a freddo e ai pH più alti possibile la riduzione completa dell'acido fosfo-molibdico mediante un riducente che sia in grado di agire in un tempo breve, come l'acido ascorbico, analogamente a quanto hanno proposto Lowry e Lopez *.

---

* Si ammette, coi citati autori, che l'idrolisi degli esteri fosforici, anche labili (come la fosfocreatina, l'acetilfosfato, il ribosio-1-fosfato), sia praticamente trascurabile quando si operi a pH intorno a 4, alla temperatura ambiente, nei primi 5-10 minuti dalla mescolanza dei reattivi.

Poi, dopo aver aggiunta, rapidamente, la quantità di acido solforico che è in grado di impedire sia la formazione del bleu di molibdeno puro che la ulteriore formazione del complesso fosfo-molibdico per idrolisi dell'estere, e che non è invece in grado di agire sul bleu di molibdeno fosforato già formato e in via di assestamento, si dovrà scaldare su bagno-maria bollente onde consentire al colore di raggiungere in breve tempo l'assestamento finale.

Questa tecnica consente di effettuare misure « assolute » e inoltre di esaltare la sensibilità del metodo per il fatto che l'assestamento della curva di colore nella forma definita e costante si traduce sostanzialmente in un innalzamento generale della curva stessa, che risulta più marcato in corrispondenza delle maggiori lunghezze d'onda. Mentre quando la riduzione deve ritenersi ultimata, ma non è ancora iniziato l'assestamento, l'estinzione si mantiene praticamente costante entro un ampio intervallo di lunghezze d'onda — da 700 a 800 m μ — quando la curva di colore ha assunto l'aspetto definitivo si notano differenze molto marcate nelle estinzioni misurate alle varie lunghezze d'onda, nell'intervallo indicato. Dunque l'« assestamento » della curva determina un aumento della sensibilità dovuto ad un innalzamento generale della curva stessa ed offre altresì la possibilità di una ulteriore esaltazione che si può conseguire effettuando le misure fotometriche alle lunghezze d'onda maggiori, cioè nella zona spettrale in cui la estinzione raggiunge i valori massimi.

Nella loro nota (10) Lowry e Lopez affermano che l'acido fosfomolibdico viene ridotto dall'acido ascorbico da pH 0,4 a 0,9 e da pH 2,8 a 4,6 — con velocità utile — senza che si formi il « bleu di molibdeno puro », il quale si produce invece se si opera ai pH compresi tra 0,9 e 2,8.

Si è voluto indagare fino a quale limite di pH la reazione avviene ancora quantitativamente — con velocità utile — in vista dell'opportunità di operare in condizioni di acidità ancora inferiori a quelle proposte da Lowry e Lopez: si è constatato che il bleu di molibdeno fosforato si forma ancora a pH intorno a 5,0 con velocità di poco inferiore a quella constatata da Lowry e Lopez per pH intorno a 4,0, mentre a pH superiori a 5,0 la velocità si riduce sensibilmente. Il limite oltre il quale la reazione non avviene praticamente, neppure prolungando notevolmente il tempo di attesa, si trova intorno a pH 5,5-5,6.

Questo rallentamento della fase di riduzione ai pH alti sembrerebbe in contrasto con quanto è stato detto precedentemente: il fatto potrebbe venir spiegato ammettendo che in queste condizioni di debolissima acidità fosse inibita la formazione dell'acido fosfo-molibdico.

Si è infine considerata l'interferenza che sul dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico minerale, eseguito nelle condizioni di debole acidità, può esercitare la silice solubile, dato che questa è molto spesso naturalmente presente nei liquidi biologici e negli estratti da sottoporre ad analisi ovvero può esservi portata dai reattivi che si sono usati per preparare il campione (alcali caustici, carbonati o acetati alcalini, ecc.).

Quando si operi a pH alti, compresi fra 4 e 5, soltanto una parte della silice solubile può dare luogo alla formazione dell'acido silico-molibdico e, per riduzione di questa, al bleu di molibdeno siliciato, perchè il pH al quale la reazione sarebbe quantitativa è molto più basso (intorno a 1,5) (5 e 6). Tuttavia l'interferenza può non essere trascurabile quando la quantità di silice solubile sia molto grande rispetto alla quantità di acido fosforico ovvero quando si abbia ragione di prolungare notevolmente il tempo che intercorre tra l'aggiunta del riducente e l'acidificazione massiva che deve essere fatta prima del riscaldamento, specie se si impieghi una quantità di molibdato maggiore di quella consueta.

Questo caso si presenta, ad esempio, quando si voglia dosare l'acido fosforico minerale in estratti acquosi di terreno e non ci si preoccupi nè della possibile idrolisi che esteri fosforici particolarmente labili subiscono col passare del tempo anche ai pH alti, nè dell'effetto catalitico che sull'idrolisi degli esteri stessi esercita il molibdato (11).

Sulla base dei risultati di un recentissimo studio (8) si può annullare l'effetto della interferenza considerata operando in modo semplicissimo: dopo aver seguìto le norme prescritte per il dosamento dell'acido fosforico minerale in presenza di esteri labili e, trascorso il tempo stabilito, dopo avere acidificato con la quantità di acido solforico che è sufficiente a impedire la formazione di nuovo acido fosfo-molibdico e quindi di nuovo bleu di molibdeno fosforato a spese dell'acido fosforico proveniente dall'idrolisi degli esteri, si scalda su bagno-maria bollente per determinare l'assestamento del colore. In tali condizioni, se una parte della silice solubile ha potuto reagire, si sarà formato anche dell'acido silico-molibdico e quindi anche del bleu di molibdeno siliciato. Dopo raffreddamento, si misura l'estinzione della soluzione bleu così ottenuta (somma dell'estinzione che compete al bleu di molibdeno fosforato e di quella che compete al bleu di molibdeno siliciato).

Per determinare l'entità dell'interferenza dovuta a questo ultimo si approfitta della netta differenza di resistenza all'azione demolitrice dell'acido solforico presentata dagli acidi fosfo-molibdico e silico-molibdico.

La quantità di acido solforico che si è aggiunta per impedire la formazione di nuovo complesso fosfo-molibdico è sufficiente a demolire anche quello presente, che si trova sotto forma di bleu di molibdeno fosforato (e che in tale forma non viene demolito dalla detta quantità di acido solforico), ma che può venir ripristinato da questa per semplice ossidazione mediante permanganato. Quest'ultimo ripristina tanto l'acido fosfo-molibdico che l'eventuale acido silico-molibdico e ossida inoltre l'eccesso di riducente. Istantaneamente l'acido fosfo-molibdico viene demolito dall'acido solforico presente, mentre l'acido silico-molibdico non lo è affatto. Basta quindi aggiungere un altro po' di riducente (acido ascorbico) e scaldare su bagnomaria per vedere ricomparire la sola quota di bleu che compete al bleu di molibdeno siliciato. Sottraendo l'estinzione di quest'ultimo all'estinzione determinata preventivamente, come si è detto, sul bleu « globale » (fosforato + siliciato), si ricava l'estinzione che compete al bleu di molibdeno fosforato che si era formato a spese dell'acido fosforico che si trovava nel liquido in esame allo stato minerale.

Parte sperimentale

Sono necessari i seguenti reattivi:

a) reattivo molibdico: soluzione acquosa di molibdato d'ammonio all'1,44 %. Ogni cc contiene 14,4 milligrammi del sale, corrispondenti a circa 12 mg di MoO_3;

b) soluzione di H_2SO_4 8 N, esente di arsenico;

c) riducente: soluzione acquosa al 2,5 % di acido ascorbico, preparata di recente;

d) soluzioni tampone (acido acetico/acetato sodico 0,4 mol totale). Ogni prova viene addizionata di un volume conveniente del tampone, aggiustato al pH prescelto (tra 3,6 e 5,6), e viene portata alla fine ad un volume doppio, quindi la concentrazione finale è 0,2 mol totale, come prescrive Walpole (2);

e) soluzione di $KMnO_4$ N/2 - N/10.

Se la prova in bianco, per impurezze dei reattivi, non desse al fotometro il 100 % di trasparenza, bisognerebbe mettere nella vaschetta di confronto il liquido in bianco medesimo ovvero sottrarre l'estinzione corrispondente da tutte le estinzioni determinate usando i detti reattivi.

Le misure fotometriche sono state effettuate con lo Spettrofotometro Universale di Coleman, modello 14; le misure di pH, col potenziometro Beckman, modello « G ».

1\. — **Sulle velocità dei processi di «riduzione» dell'acido fosfo-molibdico e di «assestamento» del bleu di molibdeno fosforato a diversi gradi di acidità**

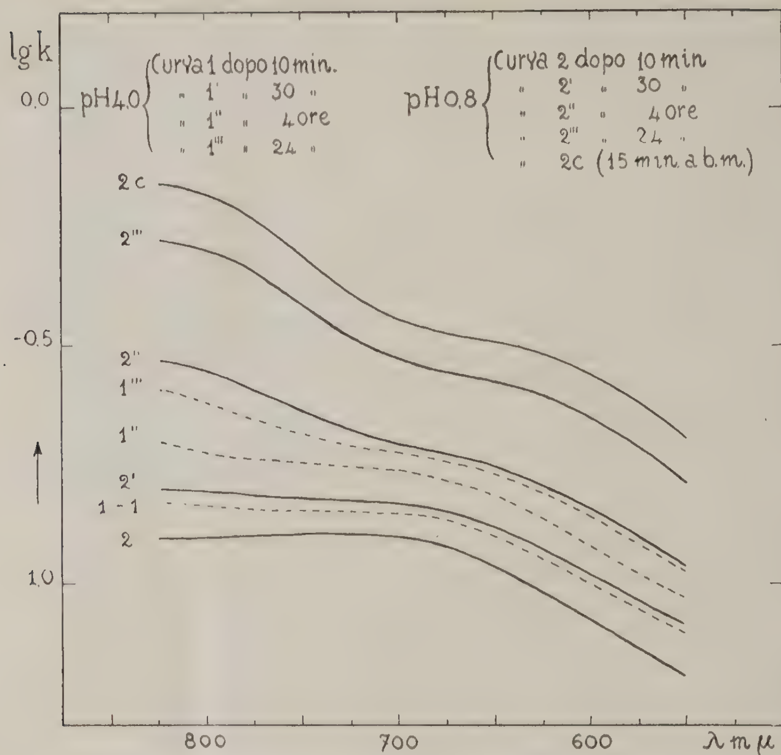
Per illustrare quanto è stato detto nella parte introduttiva a proposito dell'influenza esercitata dal grado di acidità sulle velocità con cui si compiono, a freddo, sia il processo di « riduzione » che caratterizza la prima delle due fasi nelle quali si è ritenuto di suddividere la reazione su cui si fonda il notissimo metodo di dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico, sia il processo di « assestamento » che ne caratterizza la seconda fase, dopo aver accertato che il fenomeno avviene sia ai pH bassi (inferiori a 1), sia ai pH alti (intorno a 4 o superiori), a titolo indicativo si riportano i risultati di due prove eseguite come segue: quantità di fosfato monopotassico corrispondenti a mg 0,25 di P_2O_5, convenientemente diluite con acqua, sono state addizionate di 5 cc del reattivo molibdico *a)* e rispettivamente di 0 e di 4 cc di H_2SO_4 8 N, poi di 2 cc del riducente *c)* e infine portate con acqua al volume di 100 cc: i pH delle due soluzioni (contraddistinte con i numeri 1 e 2) erano rispettivamente 4,0 e 0,8.

L'influenza esercitata dal grado di acidità sulla fase di « riduzione » e su quella di « assestamento » è chiaramente dimostrata dall'andamento delle curve riportate nel diagramma: esse sono state costruite in base alle misure fotometriche eseguite dopo i seguenti tempi dalla mescolanza dei reattivi: 10 e 30 minuti, 4 e 24 ore.

Per comodità di confronto è stata riportata anche la curva di colore corrispondente al bleu definitivamente assestato ottenuto per riscaldamento su bagno-maria bollente per 15 minuti di una soluzione preparata nello stesso modo della 2 (curva 2-c), cioè in condizioni di netta acidità.

Si vede chiaramente che la formazione del bleu è da ritenersi completa dopo 10 minuti dalla mescolanza dei reattivi nelle condizioni di debole acidità (pH 4) mentre è ancora incompleta a pH 0,8. Risulta pure evidente la diversa velocità con la quale procede il processo di assestamento del colore: dopo 24 ore la curva corrispondente alla soluzione di pH 0,8 è quasi « assestata » mentre quella corrispondente alla soluzione di pH 4,0 lo è in misura nettamente inferiore.

Come si è detto nella parte introduttiva, il riscaldamento delle soluzioni bleu ottenute in condizioni di debole acidità non conduce alla curva assestata (2-c del diagramma). Si nota solo un progressivo aumento del colore, la cui curva tende ad assomigliare a quella definitivamente assestata, specialmente intorno a 650 mμ, meno in corrispondenza delle



Influenza del grado di acidità sulle velocità dei processi di «riduzione» dell'acido fosfo-molibdico e di «assestamento» del bleu di molibdeno fosforato (temperatura ≈ 20 °C).

maggiori lunghezze d'onda. Si nota altresì che, dopo un certo tempo di riscaldamento (30-60 minuti) la colorazione comincia ad attenuarsi fino a scomparire praticamente. Poichè le curve che si ottengono a caldo nelle condizioni di debole acidità non sono riproducibili, anche mantenendo il più possibile costanti le condizioni di esperienza (tempo di riscaldamento, pH, ecc.) si conclude che non è assolutamente consigliabile cercare di produrre un assestamento del colore nelle condizioni di debole acidità. E ciò indipendentemente dalla circostanza che il riscaldamento, anche a pH alti, determinerebbe un'idrolisi degli esteri labili la cui interferenza viene invece evitata completamente quando si operi il riscaldamento nelle condizioni di fortissima acidità che impediscono la formazione dell'acido fosfo-molibdico.

L'andamento della curva di colore della soluzione ottenuta a caldo in condizioni di netta acidità solforica (curva 2-c del diagramma) in con-

fronto all'andamento delle curve che rappresentano i prodotti bleu non ancora « assestati » dimostra in modo molto evidente quanto si è detto nella parte introduttiva circa l'esaltazione della sensibilità delle misure fotometriche che si consegue quando la reazione cromatica venga portata alla fine, accelerando l'« assestamento » mediante riscaldamento su bagnomaria, in confronto a quando la reazione venga eseguita a freddo e le misure vengano fatte dopo pochi minuti dalla mescolanza dei reattivi.

2. — Sulla formazione del bleu di molibdeno fosforato a pH superiori a 4,0

Allo scopo di operare a pH sicuramente fissi e determinati si è ritenuto necessario tamponare il liquido in esame, analogamente a quanto è prescritto da Lowry e Lopez, e si è scelto il tampone acetato sodico/acido acetico di Walpole. Come è noto, questo tampone è particolarmente adatto nell'intervallo di pH 3,6-5,6.

Ogni prova riportata nella tabella I è stata quindi addizionata di 50 cc della soluzione tampone d), opportunamente regolata al pH voluto.

Quando si impieghi il tampone, è necessario aumentare la quantità di reattivo molibdico a) per annullare l'azione ostacolante esercitata dall'acido acetico e dall'acetato sulla formazione del complesso fosfo-molibdico, azione ostacolante che sarebbe trascurabile se si operasse a caldo, ma che è invece sensibile quando si operi a temperatura ambiente. Si prescrive quindi di impiegare 10 cc del reattivo a), in luogo dei 5, e, dopo aggiunta del riducente, di portare con acqua al volume di 100 cc, lasciando poi in riposo il tempo necessario per il completo sviluppo del colore (almeno 10 minuti alla temperatura di 20° C). Trascorso questo tempo, si prelevano 50 cc della soluzione (che contengono una quantità di molibdato corrispondente a 60 mg di MoO_3 *) e si opera in modo da determinare l'assestamento del colore senza consentire la formazione di nuovo bleu di molibdeno fosforato a spese di eventuale acido fosforico che non avesse ancora reagito per dare l'acido fosfo-molibdico: dopo cioè aver diluito con circa 25 cc di acqua, si acidifica con 17 cc di H_2SO_4 8 N e poi si scalda per 15 minuti su bagno-maria bollente.

Quando si usi il tampone nella misura indicata, circa 1 cc di H_2SO_4 8 N viene neutralizzato dall'acetato sodico: tuttavia i 17 cc di H_2SO_4 8 N

---

* È opportuno che la soluzione bleu in cui si vuole determinare l'assestamento del colore non contenga più di 60 mg di MoO_3 perchè altrimenti occorrerebbe usare una quantità notevolmente maggiore dei 17 cc di H_2SO_4 8 N (7) e ciò condurrebbe a una demolizione, sia pure parziale, del bleu di molibdeno fosforato.

sono sufficienti a inibire la formazione di acido fosfo-molibdico anche se l'acido fosforico è presente in dosi corrispondenti a 1 mg di P_2O_5. Si consiglia di limitare il tempo di riscaldamento su bagno-maria a 15 minuti, più che sufficienti per determinare l'assestamento del colore in queste condizioni di forte acidità. La diluizione intorno a 75-80 cc prima dell'aggiunta dei 17 cc di H_2SO_4 8 N è necessaria per evitare l'azione demolitrice dell'acido solforico sul bleu di molibdeno fosforato che avverrebbe in ambiente troppo acido (7).

Nella tabella I sono raccolti i dati delle prove effettuate, a pH compresi tra 4,0 e 5,6, operando come segue: quantità di fosfato monopotassico corrispondenti a mg 0,25 di P_2O_5 sono state addizionate di 50 cc delle soluzioni tampone d), aggiustate ai pH indicati, di 10 cc del reattivo molibdico a), di 4 cc della soluzione riducente c) e infine diluite con acqua al volume di 100 cc. Di ciascuna soluzione è stato controllato il pH. Dopo i tempi di attesa segnati nella tabella, si sono prelevati per ogni prova 50 cc di ciascuna soluzione, si sono diluiti con 25 cc d'acqua, acidificati con 17 cc di H_2SO_4 8 N e si sono scaldati per 15 minuti su bagno-maria bollente. Dopo raffreddamento, le soluzioni sono state portate al volume di 100 cc e sottoposte alle misure fotometriche.

TABELLA I

Prova n.	pH	Tempo di attesa minuti	Trasparenza a 650 m μ T %	Estinzione specifica trovata k	Estinzione specifica calcolata k	Differenza Δ k
1	4,0	10	69,0	0,161	0,162	— 0,001
2	4,6	10	69,0	0,161	0,162	— 0,001
3	4,8	10	69,0	0,161	0,162	— 0,001
4	5,0	10	69,0	0,161	0,162	— 0,001
5-5′	5,1	10	70,0	0,155	0,162	— 0,007
	5,1	20	69,0	0,161	0,162	— 0,001
6-6′	5,2	20	70,0	0,155	0,162	— 0,007
	5,2	30	69,0	0,161	0,162	— 0,001
7-7′	5,4	30	72,0	0,143	0,162	— 0,019
	5,4	90	69,0	0,161	0,162	— 0,001
8	5,5	90	82,0	0,086	0,162	— 0,076
9	5,6	>90	100,0	0,000	0,162	— 0,162

Come è stato detto nella parte introduttiva, i risultati della tabella I permettono di affermare che la formazione del bleu di molibdeno fosforato avviene quantitativamente, in tempo utile (intorno ai 10 minuti alla temperatura di circa 20° C) fino a pH 5,0. Nell'intervallo tra pH 5,0 e 5,4 la velocità si riduce gradualmente e a pH 5,6 la reazione non avviene affatto.

3. — Interferenza della silice solubile sul dosamento dell'acido fosforico minerale quando si operi a pH compresi tra 4,0 e 5,0

Per confermare l'interferenza esercitata dalla silice solubile sul dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico minerale eseguito nelle condizioni di debole acidità — analoghe a quelle proposte da Lowry e Lopez — o inferiori, e per stabilirne anche la entità, si sono effettuate le prove riportate nelle tabelle II e III e si è operato come segue:

Prove con silice solubile in assenza di acido fosforico:

Prove n. 1. — A un volume di soluzione di silicato di sodio corrispondente a mg 1 di SiO_2 solubile sono stati aggiunti 50 cc di tampone di pH circa 5,0, 10 cc del reattivo molibdico a), 4 cc del riducente c) e si è portato con acqua al volume di 100 cc: il pH di questa soluzione è 5,0. Dopo 10 minuti di riposo, 50 cc di questa soluzione diluiti con 25 cc di acqua sono stati addizionati di 17 cc di H_2SO_4 8 N, si è ossidato con permanganato (8) fino a colorazione rosso-violacea persistente e subito si sono aggiunti 2 cc del riducente c) e si è tenuto su bagno-maria bollente per 15 minuti. Dopo raffreddamento, si è portato con acqua a 100 cc (prova 1 a)) e si sono eseguite le misure fotometriche. Gli altri 50 cc, dopo riposo di 30 minuti, sono stati trattati nello stesso modo (prova 1 b)).

Prove n. 2. — A un volume di soluzione di silicato di sodio corrispondente a mg 1 di SiO_2 solubile, convenientemente diluito, si sono aggiunti 10 cc del reattivo molibdico a), 4 cc del riducente c) e si è portato con acqua a 100 cc: il pH di questa soluzione è 4,0. Dopo 10 minuti di riposo, 50 cc di questa soluzione si sono trattati con acido solforico e permanganato nel modo sopra detto (prova 2 a)). Gli altri 50 cc dopo 30 minuti di riposo, sono stati ugualmente trattati (prova 2 b)). I risultati delle misure sono raccolti nella tabella II:

Tabella II

Prova n.	pH	Tempo riposo minuti	Trasparenza a 650 m μ T %	Estinzione specifica k	SiO_2 solubile dosata mg	% della SiO_2 solubile presente che ha reagito
1 a)	5,0	10	91,0	0,041	0,038	7,62
1 b)	5,0	30	84,0	0,076	0,071	14,13
2 a)	4,0	10	83,5	0,078	0,072	14,50
2 b)	4,0	30	70,8	0,150	0,139	27,88

Prove con silice solubile in presenza di acido fosforico:

Prove n. 3. — A un volume di soluzione di silicato di sodio corrispondente a mg 1 di SiO_2 solubile, mescolato con un volume di soluzione di fosfato monopotassico corrispondente a mg 0,25 di P_2O_5 sono stati addizionati 50 cc di tampone di pH 5 circa, 10 cc del reattivo molibdico a), 4 cc del riducente c) e si è portato con acqua al volume di 100 cc: il pH di questa soluzione è 5,0. Dopo 10 minuti di riposo, 50 cc di questa soluzione sono stati diluiti con 25 cc di acqua e addizionati di 17 cc di H_2SO_4 8 N e poi si è scaldato su bagno-maria bollente per 15 minuti. Dopo raffreddamento, si è portato con acqua al volume di 100 cc (prova 3 a)) e si è misurata l'estinzione del bleu ottenuto, somma dei due bleu di molibdeno, fosforato e siliciato. Gli altri 50 cc, sempre dopo 10 minuti di riposo, diluiti con 25 cc di acqua, sono stati addizionati di 17 cc di H_2SO_4 8 N, si è ossidato con permanganato fino a colorazione rosso-violacea persistente e subito si sono aggiunti 2 cc del riducente c). Si è tenuto su bagno-maria bollente per 15 minuti e, dopo raffreddamento, si è portato con acqua al volume di 100 cc (prova 3 b)). L'estinzione di questa soluzione rappresenta la quota di estinzione che compete al bleu di molibdeno siliciato: sottraendola dall'estinzione della prova 3 a), si ottiene « indirettamente », l'estinzione dovuta al bleu di molibdeno fosforato.

Prove n. 4. — Gli stessi volumi di soluzioni di silicato di sodio e di fosfato monopotassico usati nelle prove 3 sono stati addizionati di 10 cc del reattivo molibdico a), di 4 cc del riducente c) e si è portato con acqua al volume di 100 cc, senza tampone: il pH di questa soluzione è 4,0. Dopo 10 minuti di riposo, 50 cc di questa soluzione sono stati trattati come per la prova N. 3 a) (prova 4 a)) e gli altri 50 cc, pure dopo 10 minuti, come per la prova N. 3 b) (prova 4 b)).

I risultati delle prove riportate nelle tabelle II e III dimostrano che la silice solubile interferisce effettivamente quando sia presente in misura

Tabella III

Prova n.	pH	Trasparenza a 650 m μ T %	Estinzione specifica trovata (somma bleu fosforato e siliciato) k_1	Estinzione specifica trovata (per il bleu siliciato) k_2	Estinzione specifica trovata (per il bleu fosforato) $k_1 - k_2$	Estinzione specifica calcolata (per il bleu fosforato) k	Differenza Δk
3 a)	5,0	63,0	0,201	—	—	—	—
3 b)	5,0	91,0	—	0,041	0,160	0,162	— 0,002
4 a)	4,0	58,5	0,233	—	—	—	—
4 b)	4,0	84,0	—	0,076	0.157	0,162	— 0,005

sensibile nel campione in esame. Essi dimostrano altresì che è possibile determinare con grande esattezza l'entità dell'estinzione dovuta al bleu di molibdeno siliciato, la quale può venir sottratta dall'estinzione « globale » determinata come somma dei due bleu di molibdeno (fosforato e siliciato) consentendo così di ricavare, per differenza, la quota di estinzione che compete al bleu di molibdeno fosforato, operando in condizioni analoghe a quelle prescritte per il dosamento « indiretto » di piccole quantità di acido fosforico in presenza di quantità relativamente enormi di silice solubile, viste in altra nota (8).

Come è stato accennato, l'eliminazione dell'interferenza esercitata dalla silice solubile sul dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico minerale in liquidi naturali ha grande interesse non soltanto quando lo si voglia dosare in presenza di silice solubile e si operi in condizioni analoghe a quelle proposte da Lowry e Lopez, ma è assolutamente indispensabile quando si abbia ragione di prolungare il tempo di riposo oltre i normali 5-10 minuti, come nel caso di estratti acquosi di terreno, nei quali la silice solubile è normalmente contenuta in quantità relativamente molto grandi rispetto a quella dei fosfati minerali. I risultati delle prove riportati nella tabella II dimostrano infatti che prolungando da 10 a 30 minuti il tempo di riposo, l'interferenza esercitata dalla silice solubile cresce in modo molto evidente: nelle prove tamponate, a pH 5,0, dal 7 al 14 % e nelle prove non tamponate, a pH 4,0, dal 14,5 al 28 % circa.

4. — Assestamento della curva di colore del bleu di molibdeno fosforato ottenuto nelle condizioni di debole acidità

Nella parte introduttiva si è detto dell'opportunità di trasformare il bleu di molibdeno fosforato che si ottiene a freddo nelle condizioni di debole acidità che vengono prescritte quando la soluzione in esame contenga esteri fosforici, anche labili, nel bleu con curva definita e costante di colore perchè soltanto questo può consentire misure « assolute » e precise.

Come si è detto, la trasformazione è indispensabile quando la soluzione in esame contenga anche quantità sensibili di silice solubile perchè offre il modo, operando come è stato descritto al punto 3, di accertare se vi sia stata interferenza da parte della silice e, in caso affermativo, di misurarne l'entità.

Ciò premesso, sono state effettuate esperienze dirette a confermare che è possibile operare l'acidificazione e anche il riscaldamento che sono necessari per ottenere in breve tempo l'assestamento finale del colore, evi-

tando ogni interferenza da parte dell'acido fosforico minerale che si libera nella saponificazione degli esteri : il totale impedimento di tale interferenza costituisce evidentemente la premessa indispensabile per l'applicazione del procedimento che forma oggetto di questa nota.

Come è stato detto nella parte introduttiva, il modo di operare che viene consigliato si fonda sui risultati di un recente studio spettrofotometrico sul bleu di molibdeno fosforato (7), al quale si rinvia per maggiori dettagli. Ci si limita qui a ricordare come sia stato, allora, dimostrato che quando si impieghi nella reazione una quantità di reattivo molibdico corrispondente a 60 mg di MoO_3, il volume più conveniente di H_2SO_4 8 N da usare è di 16-17 cc : questa quantità è infatti sufficiente a distruggere istantaneamente e quantitativamente l'acido fosfo-molibdico (anche in dosi che corrispondano a circa 1 mg di P_2O_5), mentre è del tutto senza effetto decomponente sul bleu di molibdeno fosforato, anche se questo si trovi nella fase di « assestamento ». È opportuno qui ricordare che il volume della soluzione che viene sottoposta al riscaldamento deve essere portato intorno a 90-95 cc per evitare che possa aver luogo una parziale demolizione del bleu di molibdeno fosforato durante l'assestamento del colore.

Prove preliminari eseguite con vari esteri fosforici hanno mostrato che, operando nel modo che verrà descritto più avanti, detti esteri non esercitano alcuna influenza sul dosamento dell'acido fosforico minerale, neppure quando si operino l'acidificazione e il riscaldamento necessari per accelerare l'assestamento del colore. Gli esteri usati (β-glicerofosfato di sodio, fitina) sono però da considerarsi difficilmente saponificabili e si sarebbe potuto pensare che essi non avessero esercitato alcuna interferenza perchè la loro idrolisi fosse stata trascurabile o soltanto parziale.

Nella impossibilità di procurare esteri labili del tipo di quelli impiegati da Lowry e Lopez, si è pensato di realizzare le condizioni più sfavorevoli al dosamento nel modo che verrà descritto più sotto.

Si è anzitutto ammesso, come molto verosimile, che i più comuni esteri fosforici, anche labili, non subiscano idrolisi apprezzabile nei primi 5-10 minuti dall'aggiunta dei reattivi, quando si operi a temperatura ambiente (intorno a 20° C) e a pH relativamente alti (intorno a 4 o superiori). Trascorso questo tempo, si sono operate la diluizione e l'acidificazione nelle misure prescritte e si è aggiunta, prima di scaldare su bagnomaria, una quantità di fosfato monopotassico corrispondente a circa 1 mg di P_2O_5 : si ritiene di aver così realizzato la condizione più sfavorevole, che si identifica con la totale, immediata, idrolisi dell'estere fosforico presente in dosi corrispondenti a detta quantità di P_2O_5.

Si è operato come segue : 4 prove, distinte coi numeri 1, 2, 3 e 4, contenenti rispettivamente quantità di fosfato monopotassico corrispon-

denti a mg 0-0-0,25 e 0,25 di P_2O_5, diluite con acqua intorno a 70 cc, sono state addizionate di 5 cc del reattivo molibdico a) e di 2 cc del riducente c). Dopo riposo di 10 minuti, si sono aggiunti a ogni soluzione 17 cc di H_2SO_4 8 N e si è scaldato per 15 minuti su bagno-maria. Prima del riscaldamento, alle soluzioni 2 e 4 si è aggiunto 1 cc di una soluzione di fosfato monopotassico corrispondente a 1 mg di P_2O_5.

I risultati delle misure fotometriche sono riportati nella tabella IV.

Tabella IV

Prova n.	Trasparenza a 650 mμ T %	Estinzione specifica trovata k	Estinzione specifica calcolata k	Differenza Δk
1	100,0	0,000	0,000	0,000
2	100,0	0,000	0,000	0,000
3	47,8	0,321	0,324	— 0,003
4	47,5	0,323	0,324	— 0,001

Si vede chiaramente che le estinzioni delle soluzioni di ugual contenuto in fosfati minerali, ottenute con e senza l'aggiunta di fosfato prima del riscaldamento, sono praticamente uguali, il che dimostra che l'eventuale idrolisi, anche totale, degli esteri supposti presenti, non influisce sul dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico minerale, purchè prima del riscaldamento venga aggiunta la quantità prescritta di acido solforico.

Procedimento proposto per i dosamenti dell'acido fosforico minerale (in presenza di esteri fosforici, anche labili), dell'acido fosforico totale e della quota di silice solubile che abbia eventualmente reagito

Premesso che la quantità totale di acido fosforico (minerale + esterificato) contenuta in ciascuna prova da sottoporre alle misure fotometriche è opportuno che sia al massimo di circa 0,5 mg, espressa come P_2O_5, sulla base di quanto precede è stato elaborato un procedimento che consente di dosare direttamente sia l'acido fosforico totale che la quota di questo contenuta in forma minerale, ricavando, per differenza, la quota

contenuta in forma di estere. Esso consente di determinare altresì l'entità dell'eventuale interferenza esercitata dalla silice solubile e quindi di correggere il dato che si riferisce al contenuto in acido fosforico minerale, evitando di commettere errori che possono essere anche molto sensibili quando la prova in esame contenga quantità di silice solubile relativamente elevate.

Il procedimento è il seguente: un volume conveniente della soluzione in esame (che deve contenere al massimo intorno a 2 mg di P_2O_5 totale) viene addizionato di 100 cc della soluzione tampone d), aggiustata al pH ritenuto più conveniente *, compreso tra 4 e 5, di 20 cc del reattivo molibdico a), di 8 cc del riducente c) e viene portata con acqua al volume di 200 cc.

Vengono prelevate 3 porzioni di 50 cc ciascuna di questa soluzione: una serve per la determinazione dell'acido fosforico totale (soluzione 1), una per la determinazione dell'acido fosforico minerale e della eventuale quota di silice solubile che abbia reagito (soluzione 2) e la terza per la determinazione di questa quota di silice solubile (soluzione 3).

Dopo il tempo di riposo stabilito (5-10 minuti) per la completa riduzione del complesso fosfo-molibdico, sì da evitare o comunque contenere in limiti molto modesti l'idrolisi degli esteri fosforici, le soluzioni 2 e 3 vengono addizionate di 25 cc d'acqua e acidificate con 17 cc di H_2SO_4 8 N: la soluzione 2 viene quindi posta per 15 minuti su bagno-maria bollente e, dopo raffreddamento, viene portata con acqua al volume di 100 cc. L'estinzione di questa soluzione corrisponde alla somma delle estinzioni del bleu di molibdeno fosforato e dell'eventuale bleu di molibdeno siliciato che abbia potuto formarsi. La soluzione 3, dopo l'acidificazione con i 17 cc di H_2SO_4 8 N, viene addizionata di permanganato fino a colorazione rosso-violacea persistente, poi di 2 cc del riducente c) e quindi scaldata su bagno-maria bollente per 15 minuti. Dopo raffreddamento, viene portata con acqua al volume di 100 cc: l'estinzione misurata corrisponde a quella dovuta al bleu di molibdeno siliciato e deve venir sottratta dall'estinzione della soluzione 2 per ricavare la quota di questa che compete al bleu di molibdeno fosforato.

I 50 cc della soluzione 1 vengono posti in un pallone Kjeldahl da 250 cc e addizionati di 5 cc di H_2SO_4 8 N. Si introducono nel pallone

* L'aggiunta della soluzione tampone può essere omessa quando non sia indispensabile lavorare a un pH sicuramente fisso.

alcune palline di vetro e si evapora la soluzione fino a svolgimento di fumi bianchi (il volume si riduce a circa 1 cc) : conviene accelerare la distruzione della sostanza organica mediante aggiunta di piccole quantità di perclorato potassico in sostanza *, come è stato descritto in altra nota (4). Quando il liquido contenuto nel pallone sia del tutto incoloro, si lascia raffreddare, si diluisce con acqua fino a circa 60-70 cc e si aggiungono 2 cc del riducente c). Quindi si pone il pallone per 15-30 minuti su bagnomaria bollente e, dopo raffreddamento, si porta con acqua al volume di 100 cc. L'estinzione di questa soluzione permette di ricavare il contenuto in P_2O_5 totale del campione.

Si è constatato che l'acido silico-molibdico, come pure il bleu di molibdeno siliciato, vengono quantitativamente decomposti durante l'attacco acido sopra detto : quantità anche relativamente elevate di silice non possono interferire nel successivo dosamento « diretto » dell'acido fosforico totale perchè la maggior parte della silice viene insolubilizzata e quella che eventualmente fosse rimasta allo stato solubile non può formare l'acido silico-molibdico nelle condizioni di netta acidità solforica in cui si opera.

Si è anche verificato che la quantità di acido solforico che viene eliminata durante il trattamento descritto non è mai tale da alterare sensibilmente il rapporto molibdato : acido solforico che è stato scelto come più conveniente.

Si è infine verificato che l'attacco acido non determina perdite sensibili di molibdato neppure quando la soluzione in esame contenga quantità relativamente elevate di cloruri : si sarebbe infatti potuto temere che una parte dell'acido molibdico potesse sfuggire sotto forma di $MoO_3.HCl$, che è notoriamente volatile.

Se il liquido in esame contiene una quantità sensibile di sali di calcio, può verificarsi la formazione di solfato di calcio, che intorbida la soluzione bleu : prima di eseguire le misure fotometriche occorre attendere che il precipitato si depositi spontaneamente oppure si può centrifugare, ma mai filtrare.

È da tener presente una possibile causa d'errore che può verificarsi quando si confrontino le estinzioni di soluzioni bleu ottenute acidificando

---

* È opportuno aggiungere il perclorato quando il volume della soluzione contenuta nel pallone sia intorno a 5-10 cc. Il peso di perclorato deve essere press'a poco doppio di quello della sostanza organica da distruggere.

con 5 cc di H_2SO_4 8 N (come è prescritto per il dosamento dell'acido fosforico totale) con le estinzioni di soluzioni bleu acidificate con 17 cc di H_2SO_4 8 N (come è prescritto per il dosamento della sola quota minerale): se l'acido solforico che si impiega non è completamente esente di arsenico, la prova contenente solo 5 cc di H_2SO_4 8 N può risultare debolmente colorata (al fotometro non si leggerebbe il 100 % di trasparenza), mentre la prova acidificata con 17 cc di H_2SO_4 8 N non sarebbe colorata non potendosi formare, in queste condizioni di fortissima acidità, nè l'acido fosfo-molibdico nè l'acido arseno-molibdico e conseguentemente neppure i loro prodotti di riduzione bleu.

Per evitare questa possibile causa d'errore, è opportuno controllare spesso la purezza dei reattivi, come è stato raccomandato all'inizio della parte sperimentale.

RIASSUNTO

Vengono precisate le condizioni più convenienti per produrre il « bleu di molibdeno fosforato » con curva definita e costante di colore, il solo utilizzabile ai fini quantitativi « assoluti », per la determinazione dell'acido fosforico minerale anche quando siano presenti nella soluzione in esame esteri fosforici labili. Oltre a consentire misure « assolute » molto precise, il procedimento esalta l'intensità del colore e quindi aumenta la sensibilità della reazione in confronto alle tecniche di lavoro finora proposte.

Viene indicata la via per eliminare l'interferenza che la silice solubile può esercitare sul dosamento dell'acido fosforico minerale quando si operi in condizioni di debole acidità (pH intorno a 4 o superiori).

Viene determinato il limite di acidità minima al quale la formazione del bleu di molibdeno fosforato avviene ancora con velocità utile: esso si trova intorno a pH 5.

Infine, sulla base dei risultati di questa e di altre note sull'argomento, viene suggerito un nuovo procedimento che consente di dosare, operando su parti aliquote della stessa soluzione: *a*) l'acido fosforico totale; *b*) la quota di fosfati minerali; *c*) la quota di fosfati organici (per differenza tra *a*) e *b*)); *d*) l'entità dell'interferenza che si è potuta produrre nella determinazione *b*) quando la soluzione in esame contenga della silice solubile.

SUMMARY

PHOTOMETRIC DETERMINATION OF INORGANIC PHOSPHORIC ACID IN THE PRESENCE OF ITS ESTERS

by Carlo Ferrari

(1) Experimental conditions for securing the formation of the 'phosphorated molybdenum blue' possessing a definite and constant absorption curve are given. The color curve constancy of such a compound obtained from mineral phosphate in the presence of labile phosphate esters, not only leads to a greater accuracy of the 'absolute' measurements, but, the color being more intense, the reaction is thereby more sensitive than in procedures reported so far.

(2) A procedure is devised for exactly measuring the soluble silica interference occurring at low acidity levels (pH 4.0 or more).

(3) The pH level of 5.0 has been recognised as the minimal degree of acidity permitting 'phosphorated molybdenum blue' being formed at a still useful rate.

(4) On the basis of the results of this and previous works, a new procedure is suggested for the measurement in the same sample, of the total phosphoric acid, the mineral phosphate and, by measuring the difference between the latter and the former, the organic phosphate.

BIBLIOGRAFIA

(1) Ammon, R., u. Hinsberg, K. Colorimetrische Phosphor- und Arsensäurebestimmung mit Ascorbinsäure. *Z. physiol. Chem.*, 1936, 239, 207-216; in *Chem. Zentr.*, 1936, II, 511.

(2) Clark, W. M. The determination of hydrogen ions. Baltimore, Md., 1925. Second Edition, 115.

(3) Ferrari, C. I bleu di molibdeno e il dosamento colorimetrico dell'acido fosforico in presenza di acido silicico. *Memorie Accad. Scienze Istituto*, Bologna, 1936-37, serie IX, tomo IV, 63-68; e Analisi microchimiche colorimetriche, Bologna, Ed. Dr. Cesare Zuffi, 1947, 47-64.

(4) Ferrari, C. Sul dosamento dell'acido fosforico nel Lanital e in altre fibre tessili. *Annali di Chimica Applicata*, Roma, 1937, 27, 482-486.

(5) FERRARI, C. Ueber die photometrische Mikrobestimmung der Kieselsäure. *Mikrochemie*, Wien 1951, Bd. 36-37, 585-593.

(6) FERRARI, C. Osservazioni sul comportamento dell'acido silico-molibdico in soluzione acquosa. *Gazzetta Chimica Italiana*, Roma, 1951, 81, 692-709.

(7) FERRARI, C. Contributo alla conoscenza del bleu di molibdeno fosforato. *Gazzetta Chimica Italiana*, Roma, 1951, 81, 795-818.

(8) FERRARI, C., e LUGO, P. Sulla micro-determinazione fotometrica degli acidi fosforico e silicico presenti contemporaneamente in soluzione. *Annali della Sperim. Agraria*, 1952, n. s., vol. VI.

(9) FISKE, C. H., and SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, Md., 1925, 66, 375-400.

(10) LOWRY, O. H., and LOPEZ, J. A. The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, Md., 1946, 162, 421-428.

(11) WEIL-MALHERBE, H., and GREEN, R. H. The catalytic effect of molybdate on the hydrolysis of organic phosphate bonds. *The Biochemical Journal*, 1951, Vol. 49, No. 3, 286-292.

Ricevuto l'11 giugno 1952.

STAZIONE ENOLOGICA SPERIMENTALE
(Direttore: Ettore Garino-Canina)
ASTI

E. Garino-Canina e P. Falchi

STUDIO CHIMICO-BIOLOGICO E FISICO-CHIMICO DELL'ACETO DI VINO *

Di fronte al dilagare delle sofisticazioni degli aceti unite alla mancanza di procedimenti analitici atti a svelare le frodi, il Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste ha preso una serie di provvedimenti al fine di aggiornare l'attuale legislazione sulla fabbricazione e sul commercio dell'aceto.

Un primo passo è stato fatto con l'approvazione della legge che impone ai fabbricanti dell'aceto l'imbottigliamento del prodotto destinato al consumo; con ciò il fabbricante è ritenuto unico responsabile della genuinità e della legalità del prodotto, evitando che quest'ultimo venga manipolato prima di arrivare al consumatore. Contemporaneamente il Ministero ha invitato i Laboratori preposti al controllo ed alla tutela dei prodotti agricoli a studiare la possibilità di identificare, mediante l'analisi chimica, la genuinità degli aceti al fine di avere mezzi analitici probanti atti a rivelare la frode ove essa sia stata perpetrata.

Il nome di aceto è riservato al prodotto dell'acetificazione di vino o di vinello, che contenga non meno del 5 % di acidità totale espressa come acido acetico.

In Italia la legislazione, la disciplina nella fabbricazione ed i metodi di analisi del prodotto richiedono una revisione ed una messa a punto.

Nel presente lavoro, previa un'introduzione, abbiamo preso in esame i vari metodi analitici fino ad ora seguiti per giudicare della genuinità o meno dell'aceto, appoggiando le nostre asserzioni con una serie di analisi e di prove fatte nella nostra Stazione.

---

* Le ricerche e gli studi sono stati impostati dal prof. Ettore Garino-Canina; la sperimentazione ed il lavoro analitico sono stati eseguiti dal dott. P. Falchi.

L'acido acetico è un monoacido della serie grassa che prende origine principalmente dall'azione ossidativa di numerose specie di batteri raggruppate nel gen. *Acetobacter*. L'alcool etilico rappresenta la sostanza elettiva di questi batteri, la cui azione ossidante può essere anche portata su altre sostanze quali gli zuccheri (arabinosio, glucosio, fruttosio, saccarosio, maltosio, lattosio, ecc.), gli alcool mono- o polivalenti (amilico, ecc., glicerina, ecc.), gli acidi organici (malico, succinico, citrato) con o senza formazione di acido acetico, e sullo stesso acido acetico con formazione di CO_2 e H_2O; azioni, queste, che, unitamente ai caratteri morfologici delle colture, sono di aiuto alla classificazione dei batteri acetici. Oltre all'azione ossidante i batteri acetici posseggono pure un'azione proteolitica, per cui possono attaccare le sostanze albuminoidi scindendole nei loro singoli componenti sino a formazione di ammoniaca. L'ossidazione dell'alcool etico ad acido acetico, sinteticamente espressa dalla formula



$$CH_3 - CH_2 - OH + O_2\ 20 = CH_3 - COOH + H_2O$$

avviene in due tempi: in un primo tempo, si ha una deidrogenazione dell'alcool etilico con formazione di aldeide acetica ed acqua, funzionando l'ossigeno come accettore di idrogeno ceduto dall'alcool; nel secondo tempo si ha una idratazione dell'aldeide, e, come nel primo tempo, una successiva deidrogenazione di quest'ultima con formazione di acido acetico ed acqua. Ciò renderebbe possibile la fermentazione acetica in ambiente anaerobico qualora esistessero delle sostanze (bleu di metilene) capaci di agire come accettori di idrogeno (Wieland). Secondo Neuberg, invece, in questo secondo tempo si avrebbe un'azione dismutativa tra due molecole di aldeide acetica, con formazione di acido acetico ed alcool etilico il quale rientrerebbe in ciclo. In questo caso l'ossigeno non entrerebbe nella reazione, per cui si può ritenere che in ambiente anaerobico si abbia una azione dismutativa, mentre in ambiente aerobico prevalga l'azione ossidativa.

La produzione di acido acetico non è una caratteristica specifica dei soli batteri acetici, ma si può affermare che in ogni processo biologico che accompagna le trasformazioni del mosto e del vino si ha formazione di acido acetico. Durante la fermentazione alcoolica ad opera dei Saccaromiceti si formano quantità piccole di acido acetico, il quale in parte viene ridotto ad alcool etilico per cui nel prodotto finale se ne trovano quantità variabili da 0,4 a 1,5 ‰ (Garino-Canina), a seconda della concentrazione zuccherina, della temperatura della fermentazione e dell'età di invecchiamento. Anche i batteri della fermentazione mannitica, come pure

quelli del girato, ecc., formano, tra i prodotti del loro metabolismo, quantità più o meno notevoli di acido acetico.

I batteri lattici formano pure dello zucchero acido acetico, oltrechè lattico.

* * *

È noto che i batteri acetici sono Schizomiceti, di dimensioni ridottissime, ed in genere hanno forma rotondeggiante (0,5 ÷ 1,2 × 1 ÷ 2 micron), con una leggera strozzatura nella parte mediana (in ambiente alcalino assumono una forma allungata); si riproducono molto attivamente per schizogenia dando luogo ad individui isolati (cocchi) o accoppiati (diplococchi), più raramente formanti catenelle costituite da numerosi individui (streptococchi), con maggior frequenza invece raggruppati in modo vario (stafilococchi, sarcine, ecc.).

Salvo alcune specie (*Acetobacter oxidans, A. acetigenus, A. industrium* ed i termobatteri), gli acetobatteri non sono mobili e, ad eccezione dell'*A. acetigenus*, che si può sviluppare nel substrato, sono tutti aerobi per cui si sviluppano alla superfice dei liquidi. La temperatura ottimale per il loro sviluppo oscilla tra i 22° ed i 32°; resistono bene alle basse temperature come pure, se si trovano allo stato secco, ai 100°, mentre allo stato umido muoiono a 50°-55°. La resistenza alla concentrazione alcoolica è molto variabile a seconda della specie ed è compresa tra un minimo del 5 % ed un massimo del 15 %; altrettanto si dica nei riguardi dell'acido acetico le cui concentrazioni limiti vanno dal 2 % al 14 %.

Gli acetobatteri esigono per la loro nutrizione composti azotati tra i quali i più accetti sono i peptoni e le ammidi (ottima a questo riguardo è l'acqua di lievito) ma utilizzano bene anche i sali ammoniacali e pure gli stessi nitrati. I fosfati di calcio, sodio e magnesio, rappresentano un'altra fonte di alimenti minerali e, secondo alcuni autori, l'ossidazione dell'alcool verrebbe favorita dalla presenza di tracce di ferro e di manganese.

Inibitori dello sviluppo degli acetobatteri sono i raggi ultravioletti; sono pure molto sensibili all'azione inibente dell'anidride solforosa; analoga azione hanno gli alcali, mentre certi antifermentativi, come i fluoruri ed i monobromoacetati, hanno scarsa azione.

Industrialmente si ricava acido acetico anche dalla distillazione secca del legno, questo prodotto però è alquanto impuro per la presenza di composti empireumatici. Sinteticamente si prepara acido acetico partendo dall'acetilene in presenza di ossido di mercurio usato come catalizzatore o

direttamente dagli elementi in appropriate condizioni di pressione e di catalizzazione. Alle impurità dovute al carburo di calcio usato per produrre l'acetilene si aggiungono piccole quantità di aldeide crotontilica e di acido B.ossibuttirico che si formano durante la reazione (Garino-Canina).

* * *

All'acetificazione vengono destinati i vini, in genere quelli alterati, divenuti incommerciabili, i vinelli provenienti dall'esaurimento delle vinacce, i sidri, le birre ed anche miscele idroalcooliche opportunamente integrate con sali minerali ed acqua di liviti al fine di creare l'ambiente adatto allo sviluppo dei batteri acetici. Il grado alcoolico viene portato a circa 7-8, ma non mancano aceti provenienti da liquidi più alcoolici. Essendo gli acetobatteri aerobi, l'ossidazione dell'alcool ad acido acetico avviene in ambiente molto aerato che offre agli agenti della fermentazione acetica la più ampia disponibilità di ossigeno.

Tutti i vari sistemi di acetificazione si riassumono in due principali: quello statico orleanense ad ossidazione lenta in cui gli acetobatteri si sviluppano alla superficie del liquido lasciato in riposo, e quello dinamico tedesco in cui invece il liquido attraversa diversi strati porosi di truccioli o di graspi subendo una rapida ossidazione. Teoricamente una molecola di alcool dà origine ad una molecola di acido acetico, ossia da gr 46 di alcool si ottengono gr 60 di acido acetico, ma la resa pratica non supera in genere il 78-80 % per le inevitabili perdite dovute all'aerazione ed all'evaporazione per la temperatura piuttosto elevata con uno sviluppo di 130 Cal. per grammolecola.

* * *

Il chimismo della fermentazione acetica del vino e derivati interessa, oltrechè dal punto strettamente scientifico, anche da quello analitico, in quanto ci offre l'opportunità di cercare e di determinare alcuni prodotti secondari sia della fermentazione alcoolica come di quella acetica. Numerosi sono i mezzi usati per sofisticare gli aceti; ma se certi casi essi sono di facile identificazione, perchè non rientrano negli estremi analitici definiti, in altri, e sono i più, essi ci lasciano perplessi, perchè abilmente mascherati da frodi (frode scientifica aggravata) per cui all'analisi rientrano nei limiti di normalità, limiti che per la maggior parte delle sostanze sono talmente ampi per cui un aceto sofisticato può passare per genuino. A ciò si aggiunga la grande disparità analitica dei substrati usati per la fermentazione acetica (vini a bassa gradazione alcoolica, vini ad alta gradazione alcoolica diluiti con acqua, vinelli, vini alterati, ecc.).

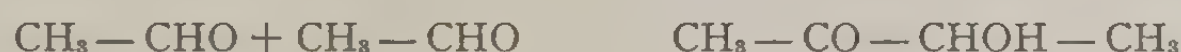
In un precedente lavoro sulla sorbite abbiamo dimostrato come quest'exite non venga alterata dalla fermentazione acetica, al punto che è possibile svelare la presenza di aceto di sidro in quello di vino, in quanto la proprietà di ossidare la sorbite in sorbosio è una attività caratteristica del B.suboxidans e B.xilinum.

L'aggiunta di SO_2 non disturba la determinazione, anzi dà un rendimento analitico maggiore perchè impedisce l'ossidazione dell'ortoclorobenzaldeide in acido ortoclorobenzoico, specialmente nel caso di aggiunta di periossidi.

Ma la frode più comune consiste nell'aggiungere acido acetico sintetico in soluzione acquosa al 5 % ad aceti naturali in parti uguali o pressapoco; qualche frode più perfezionata... aggiunge acido acetico ai residui della distillazione del vino, ottenendo valori analitici (indice iodico e permanganico, ecc.) abbastanza vicini al normale.

Tra i prodotti secondari della fermentazione alcoolica ed acetica abbiamo preso particolarmente in esame il 2-3 butilenglicole ed i suoi prodotti di ossidazione, acetilmetilcarbinolo e diacetile.

Durante la fermentazione alcoolica prendono origine quantità variabili di aldeide acetica la quale in parte viene ridotta ad alcool etilico, in parte ossidata ad acido acetico ed in parte subisce una condensazione alcoolica dando origine ad acetilmetilcarbinolo secondo l'equazione:



$$CH_3-CHO + CH_3-CHO \qquad CH_3-CO-CHOH-CH_3$$

L'acetilmetilcarbinolo subisce un'ulteriore riduzione trasformandosi in 2-3 butilenglicole, prodotto stabile e resistente all'ossidazione, per cui nel vino non si trovano che tracce di A.M.C. Durante la fermentazione acetica l'ossidazione dell'alcool in acido acetico avviene gradualmente con formazione di aldeide acetica come prodotto intermedio. Parte di questa aldeide acetica viene condensata in A.M.C. il quale, dato l'ambiente ossidante del mezzo in cui si è formato, non viene come nel caso della fermentazione alcoolica ridotto a 2-3 butilenglicole. D'altra parte, per la sua stabilità all'ossidazione, il 2-3 butilenglicole proveniente dalla fermentazione alcoolica non viene ossidato dai batteri acetici in A.M.C., come pure quest'ultimo normalmente non viene ossidato a diacetile.

In un aceto quindi troveremo sia il 2-3 butilenglicole e sia l'A.M.C., ma in quantità tanto variabili da lasciare alla frode un largo margine, tanto maggiore quando si considera la grande disparità dei substrati usati per l'acetificazione. Comunque queste considerazioni ci permettono in determinati casi di svelare la frode: un aceto proveniente dalla fermenta-

zione acetica di soluzioni idroalcooliche contiene dell'A.M.C. ma non del 2-3 butilenglicole, mentre un aceto fabbricato utilizzando i residui della distillazione aggiungendo ad essi una soluzione di acido acetico, conterrà il 2-3 butilenglicole ma non l'A.M.C., prodotto caratteristico della fermentazione acetica. Nei casi intermedi, se non scendono al disotto dei limiti minimi trovati, è difficile svelare la presenza o meno della frode. Nei dati riportati nella tabella vediamo che i quantitativi di A.M.C. trovati vanno da un minimo di mgr 209,8 ad un massimo di mgr 977,8 espressi in diacetile con la seguente frequenza:

mgr. 200 ÷ 300	300 ÷ 400	400 ÷ 500	500 ÷ 600	600 ÷ 700	700 ÷ 800	800 ÷ 900	+ 900
4	5	7	5	2	2	1	4

Questa grande diversità di contenuto in A.M.C. in differenti aceti può essere dovuta da una parte alla diversa tecnica di acetificazione, d'altra parte alle proprietà specifiche dei diversi ceppi di B.acetici.

Il metodo da noi seguìto per la determinazione dell'A.M.C. e del 2-3 butilenglicole è quello elaborato da Kniphorst-Kruisheer basato sull'ossidazione di questi composti a diacetile, il quale viene pesato sotto forma di nicheldiacetilgliossima nichelosa. A questo metodo abbiamo apportata la seguente variazione che ne aumenta la resa: raccolta del diacetile formatosi per ossidazione e separato per distillazione su idrossilamina a freddo, riscaldamento su bagnomaria dell'ossima formatasi ed aggiunta del $NiCl_2$, $CH_3 — COONH_4$ e NH_3; lasciar reagire per 12 ore a freddo e filtrare su Gook quindi pesare. Abbiamo constatato che la reazione a caldo dà un rendimento più alto che a freddo, come indica il metodo originale.

Il metodo qualitativo di Pritzker e Sungkunz, basato sulla capacità dell'A.M.C. di ridurre il liquido di Fehling a freddo, può darci un'indicazione sulla presenza o meno di questa sostanza negli aceti.

Fra i vari metodi proposti per differenziare gli aceti naturali da quelli sintetici abbiamo esaminato l'indice iodico proposto e modificato dal Pratolongo, integrato dall'indice permanganico e dalla ricerca degli zuccheri, in quanto tannino, materie coloranti e zuccheri in mezzo alcalino innalzano l'indice iodico.

Molte sono le sostanze contenute negli aceti che reagiscono con lo iodio; tra queste l'aldeide acetica ha una reattività particolare; seguono

quindi altre aldeidi e chetoni, aldeide b.ossibutirrica, ossiacetone e diossiacetone, prodotti di ossidazione della glicerina, i composti fenolici come i tannini e le sostanze coloranti; le sostanze zuccherine ed i loro acidi (acidi saccarici). In un aceto genuino, secondo il Pratolongo, l'indice iodico dovrebbe essere di 2600 con una tolleranza del 10 %; ma se ciò è valido per gli aceti che non abbiano subìto trattamenti con carbone, per quelli parzialmente o totalmente decolorati quest'indice scende a valori molto bassi. Inoltre la pastorizzazione, pratica comunemente seguìta per preservare l'aceto dalle anguillule, provoca una diminuzione di sostanze coloranti che vengono insolubilizzate in quantità tanto maggiore quanto più prolungata è l'azione dall'alta temperatura (in certi acetifici si tiene l'aceto a 40°-45° per due o tre giorni).

Un'aggiunta di tannini (3-4 ‰) ad un aceto non genuino porta l'indice iodico a valori normali, mascherando facilmente ed economicamente un indice di genuinità; d'altra parte un aceto non sofisticato, decolorato a fondo e non corretto con aggiunta di tannino, presenta un indice iodico assai al disotto del limite proposto. Negli aceti genuini da noi analizzati e dei quali riportiamo nella tabella i valori degli indici iodici trovati, 12 hanno un indice che rientra nel limite (2600, tolleranza 10 %), 3 sono di poco inferiori, i rimanenti hanno valori nettamente più bassi fino ad arrivare ad un valore di 910 riscontrato in un aceto decolorato a fondo con carbone. Le determinazioni dell'indice permanganico e del contenuto aldeidico, fatte allo scopo di integrare l'indice iodico, hanno scarso valore; la prima per l'eventuale trattamento con carbone sull'aceto che fa oscillare questo indice entro limiti troppo ampi ($4 \div 20$ meq. ‰); la seconda per la naturale grande differenza in contenuto aldeidico i cui valori estremi molto distanziati non permettono di fissare dei limiti ($44 \div 208$).

A complemento del quadro analitico ed a scopo statistico abbiamo determinato negli aceti presi in esame l'acidità totale titolabile espressa in gr di acido acetico %, l'acidità volatile, l'acido tartarico, le ceneri, l'estratto, l'alcool. A parte il valore dell'acidità totale, che per un aceto commerciabile deve essere almeno del 5 %, il valore estratto è un dato indicativo di notevole importanza, perchè quando scende al disotto di gr 13 ‰ possiamo affermare con una certa approssimazione di trovarci di fronte ad un aceto non genuino. L'estratto è naturalmente più alto negli aceti di vinello che non in quelli di vino. La correzione dell'estratto densimetrico deve essere eseguita sull'acidità volatile (acetica) e non totale.

Il contenuto alcoolico deve essere molto basso, perchè industrialmente si fabbrica aceto partendo da vino o vinelli di 7,5°-8° alcoolici, grado necessario per ottenere un aceto col 5 % di acido acetico; la presenza quindi di alcool superiore alle piccole quantità tollerate svela indirettamente l'aggiunta di acido acetico sintetico.

* * *

Lo studio fisico-chimico dell'aceto apre nuove ed interessanti prospettive sia nel campo puramente scientifico come in quello applicativo facendoci intravvedere la possibilità di differenziare gli aceti genuini da quelli sintetici.

Il pH degli aceti analizzati varia da 2,92 a 3,41 a seconda che il mezzo è più o meno tamponato, mentre il pH di una soluzione di acido acetico al 5,4 % è di 2,25, nettamente inferiore a quello degli aceti, essendo il mezzo stamponato. L'aggiunta di acido acetico, anche in forti percentuali ad un aceto non provoca sensibili diminuzioni del pH per l'elevato potere tampone di quest'ultimo, per cui il semplice valore del pH non è un indice sicuro di genuinità.

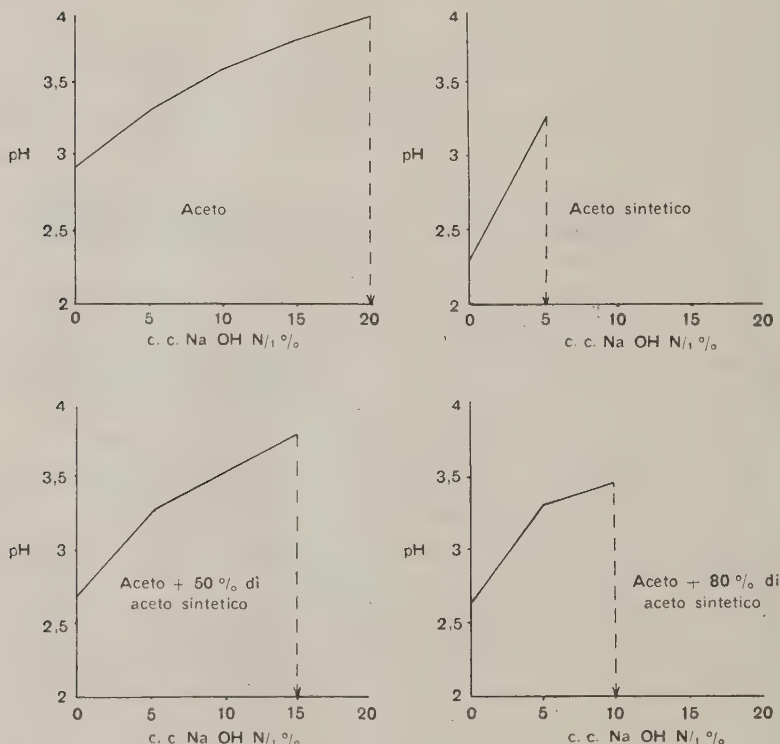
Il rapporto $\frac{\text{acidità totale espressa in meq.}}{\text{CH} \cdot 10^5}$ può essere di notevole utilità diagnostica, perchè negli aceti genuini da noi analizzati detto rapporto è sempre superiore a 0,600, mentre nell'aceto sintetico scende a 0,140, e negli aceti che hanno subìto un'aggiunta di acido acetico scende rispettivamente a 0,350 per un'aggiunta dell'80 % ed a 0,450 per un'aggiunta del 50 %; nelle condizioni di sperimentazione al nostro Laboratorio.

La variazione del pH per graduale aggiunta di NaOH ha un andamento differenziato nella prima unità, mentre avvicinandosi sempre più alla zona neutra assume un aspetto pressochè uguale sia che si tratti di aceti genuini che di aceti a cui è stato aggiunto dell'acido acetico; ciò è dovuto all'azione tamponante dell'acetato sodico, che si viene man mano formando, azione debole nelle prime aggiunte di NaOH, forte invece nelle successive. Negli aceti genuini il potere tampone (cc di NaOH N/1 % occorrenti per innalzare il pH di una unità) è nettamente più elevato che negli aceti sintetici e l'aggiunta di acido acetico è rilevabile quando è dell'ordine di 50 %; aggiunte inferiori, dato l'elevato potere tampone dell'aceto, non vengono messe in evidenza. Questo comportamento quindi è di valido aiuto per identificare gli aceti sintetici e quegli aceti che hanno subìto aggiunta di acido acetico del 50 e più per cento.

Aceto	Acidità totale gr. ac. acetico %	Acidità volatile gr. ac. acetico %	Acido tartarico gr. °/₀₀	Acetilmetil-carbinolo gr. °/₀₀ espr. in diacetile	Estratto gr. °/₀₀	Indice jodico	Indice per-manganico mlq. °/₀₀	Aldeidi mgr. °/₀₀	Alcool	pH	Ceneri
da vinello decolorato	5,08	4,70	0,937	0,2333	25,4	1352,7	7,5	102,56	1,41	3,14	2,52
da vinello decolorato	5,10	4,74	1,087	0,4117	22,6	1242,0	11,0	93,28	1,14	2,02	2,60
da vino ridotto e decolorato . . .	5,22	5,10	2,287	0,5252	15,60	910,0	4,0	89,76	0,27	2,96	2,52
da vino ridotto	4,98	4,92	1,38	0,4733	21,4	1887,14	8,0	47,2	0,33	2,99	3,05
da vinello rosso	5,34	5,04	3,112	0,4239	18,00	2116,2	13,60	107,56	0,27	2,92	2,65
da vinello decolorato	5,16	5,04	1,725	0,875	24,5	2804,26	8,8	104,89	0,27	3,10	3,78
da vino decolorato	6,18	5,82	2,475	0,4977	19,0	1580,6	4,8	94,86	0,27	2,95	2,55
da vino bianco ridotto	5,64	5,22	2,587	0,2098	22,8	2414,0	11,2	51,82	0,27	2,88	2,59
da vino bianco	5,34	5,28	0,937	0.9778	22,3	2026,2	6,8	81,40	0,40	3,24	2,54
da vino bianco	5,34	5,31	0,825	0,9723	22,3	2140,4	7,2	149,6	0,33	3,28	4,7
da vino decolorato	5,03	4,62	0,750	0,732	18,7	1892,3	7,6	66,52	0,20	3,22	4,27
da vino ridotto + enocianina . .	5,28	5,18	1,762	0,617	19,4	2856,0	16,5	83,24	0,40	3,26	2,80
da vino ridotto	6,06	5,82	1,912	0,213	16,8	2264,0	19,5	63,32	0,47	3,02	2,35
da vinello + 10% vino	6,60	6,24	1,35	0,7344	26,9	2227,2	20,1	144,88	0,33	3,36	4,27
da vinello decolorato	6,84	6,60	1,462	0,6636	23,5	1935,1	5,0	78,32	0,20	3,38	5,26
da vinello decolorato	6,18	5,88	1,160	0,3542	24,6	1463,0	6,37	95,30	1,03	2,98	2,47
da vinello decolorato	5,22	4,92	1,068	0,3973	21,4	1694,0	8,3	103,20	1,13	3,10	2,34
da vino ridotto	4,80	4,56	0,712	0,5514	21,40	2494,4	8,0	66,88	1,41	3,18	2,75
da vino ridotto	4,98	4,80	0,750	0,5563	28,1	2530,3	5,5	44,00	0,27	2,99	3,99
da tutto vino rosso decolorato . .	5,46	5,16	2,925	0,2348	32,2	2428,0	9,2	83,3	6,1	3,31	2,71
da vinello	5,47	4,98	0,880	0,5120	23,0	2000,0	7,65	51,0	0,27	3,41	3,57
da vinello	6,67	5,91	3,037	0,395	20,9	3200,0	18,0	80,0	0,27	3,30	3,30
da vino ridotto	6,60	5,94	1.95	0,829	26,7	2405,0	9,7	48,0	0,27	3,38	4,41
» » »	8,17	7,38	1,20	0,278	21,4	1571,0	8,75	88,16	0,67	3,41	2,21
» » »	5,82	5,76	3,22	0,4684	28,4	2335,0	14,30	195,0	1,27	3,08	2,49
» » »	5,64	5,58	1,35	0,427	29,4	2680,0	15,68	208,0	1,34	3,08	2,53
» » »	5,52	5,46	1,91	0,366	27,8	2393,0	8,96	112,8	1,48	2,93	2,52
» » »	5,34	5,28	1,61	0,5124	29,4	2521,0	9,30	114,0	1,54	2,98	2,52

Nel primo grafico vediamo infatti che il potere tampone di un aceto genuino è di 20 cc NaOH N/1 %, mentre quello di un aceto sintetico scende a 5; lo stesso aceto aggiunto del 50 % di aceto sintetico ha dato un valore di 15, di 10 con l'aggiunta dell'80 %. Con dieci diluizioni abbiamo una

Grafico I



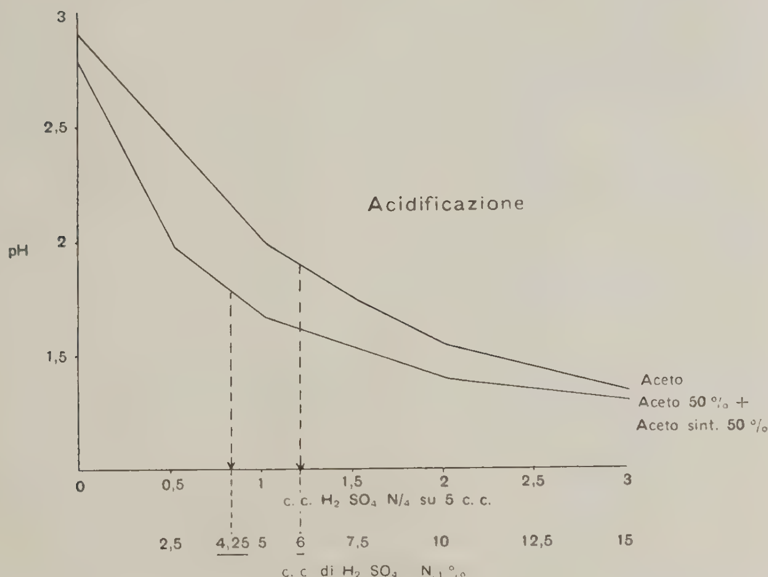
maggiore ampiezza nelle variazioni del potere tampone e quindi una maggiore sensibilità nelle aggiunte di acido acetico.

Le variazioni del pH per acidificazione hanno lo stesso andamento delle variazioni per alcalinizzazione: andamento differenziato nella prima unità, per cui un aceto genuino richiede maggior quantità di soluzione acida di un aceto sofisticato per diminuire il pH di una unità; man mano che l'acidificazione procede, le curve tendono ad uguagliarsi. Il potere tampone per acidificazione però è meno sensibile del potere tampone per

alcalinizzazione, in quanto i dati che si trovano sono molto ravvicinati (vedi grafico II).

Le curve della conducibilità specifiche misurate con il ponte di Wheatston (metodo Quartaroli) ed ottenute con successive ag-

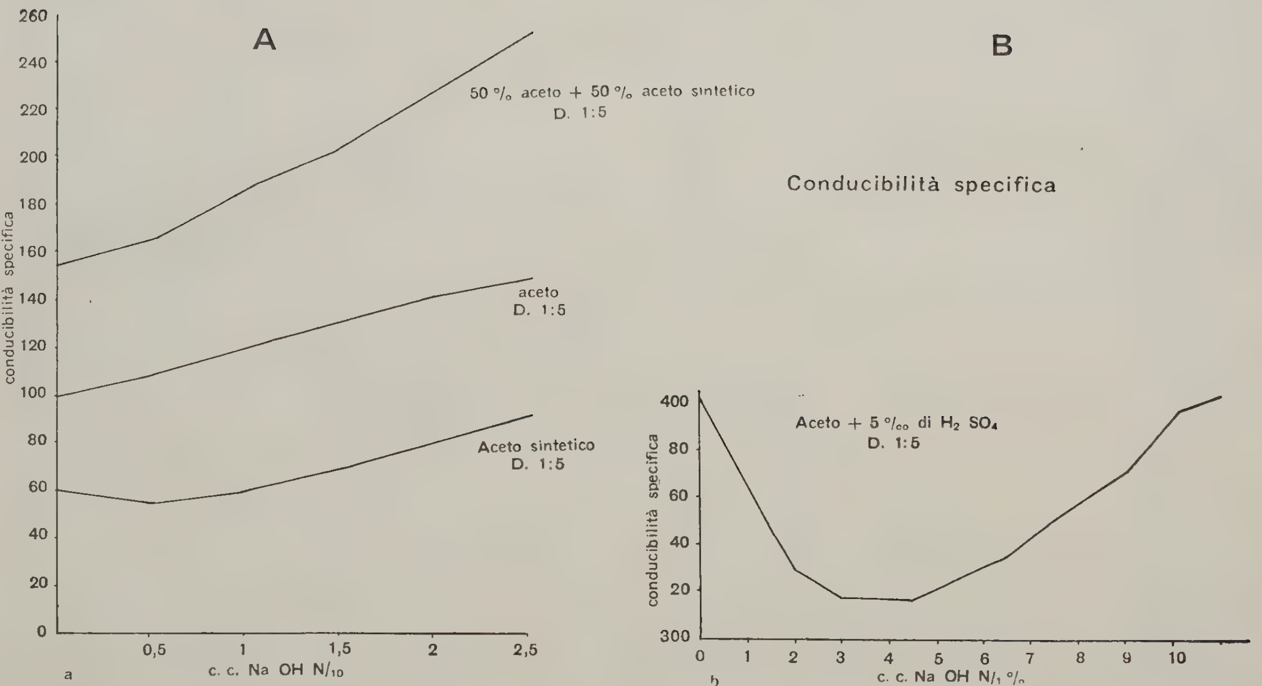
Grafico II



giunte di NaOH N/10 su aceti genuini o no, diluiti 5 volte, differenziano nettamente su aceto sintetico da un aceto genuino (vedi grafico III *A*). Nel primo caso, per un'aggiunta di 0,5 cc di NaOH N/10, la conducibilità specifica diminuisce per poi risalire per una successiva aggiunta di alcali; la curva quindi presenta una inflessione che nel secondo caso manca. Un aceto sintetico quindi, se pur in forma molto più ridotta, si comporta nei riguardi della conducibilità, come un vino od un aceto a cui è stato aggiunto un acido minerale. A questo proposito la curva della conducibilità, avendo un andamento del tutto particolare, rivela inequivocabilmente l'aggiunta di acido minerale (vedi grafico III *B*).

Miscele di aceto ed acido acetico sintetico anche del 50 %, danno una curva del tutto simile a quella data da un aceto genuino, da cui si discosta solamente per essere leggermente più verticale. La curva delle conducibilità specifiche avrebbe carattere differenziale solo nel caso di aceti completamente sintetici.

Grafico III



Conducibilità specifica
A
50 % aceto + 50 % aceto sintetico
D. 1:5
aceto
D. 1:5
Aceto sintetico
D. 1:5
conducibilità specifica
260
240
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0,5
1
1,5
2
2,5
c. c. Na OH N/10
a
B
Aceto + 5 °/oo di H2 SO4
D. 1:5
conducibilità specifica
400
80
60
40
20
300
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
c. c. Na OH N/1 °/o
b

Conclusioni

Premesso che l'etereogeneità della materia prima, impiegata nella fabbricazione dell'aceto, è una delle cause dell'incertezza del giudizio sulla genuinità di questo prodotto, alla quale occorre aggiungere i troppo numerosi trattamenti permessi ai vini ed agli aceti, dai dati analitici riportati dalla letteratura chimica e da quelli da noi ottenuti su di una serie di prodotti industriali di sicura genuinità si può affermare:

è possibile svelare la presenza di aceto di mele o di pere in base alla ricerca della sorbite, che non viene alterata nella fermentazione acetica;

gli acidi minerali aggiunti in frode sono facilmente svelabili dalle ricerche fisico-chimiche e dalla conducibilità elettrica (metodo Quartaroli);

la correzione al valor densimetrico per ottenere l'estratto degli aceti, dato di notevole importanza diagnostica, deve essere fatta sulla base dell'acidità volatile e non su quella dell'acidità totale;

gli aceti esenti da 2-3 butilenglicole e da acetilmetilcarbinolo denunziano, senza riserve, la frode per aggiunta di acido acetico sintetico o la presenza di aceto di flemma;

il rapporto acidità titolabile espresso in milliequivalenti e la concentrazione idrogenionica (Ch. $10.^5$) è per gli aceti genuini di norma superiore al valore di 0,600; gli altri indici fisico-chimici potere tampone, conducibilità specifica, concorrono a confermare il giudizio;

gli indici chimici, indice iodico ed indice permanganico, da soli non possono costituire una sicura base di giudizio, per la disformità della materia prima, degli agenti della fermentazione acetica e perchè la legislazione e la regolamentazione attuali prevedono impieghi e permettono trattamenti che ne possono infirmare i risultati.

A questo proposito è auspicabile una revisione della legislazione, della regolamentazione nella preparazione degli aceti ed un aggiornamento dei metodi di analisi, attualmente inadeguati e non corrispondenti allo scopo.

Emerge infine, da quanto siamo andati esponendo, la constatazione che i metodi chimici di cui disponiamo e con le nuove determinazioni e rapporti che vengono proposti, che dovranno essere controllati da altri Laboratori e per altri prodotti, è possibile formulare un giudizio abbastanza fondato sulla genuinità degli aceti di vino.

RIASSUNTO

Con lo studio chimico-biologico e fisico-chimico su aceti di sicura genuinità, gli AA. si sono proposti di prendere in esame le costanti fisico-chimiche ed i prodotti secondari del chimismo della fermentazione acetica con lo scopo di vedere se era possibile identificare gli aceti di fermentazione da quelli sofisticati con acido acetico sintetico.

Il giudizio della genuinità basato esclusivamente sulla composizione chimica, data l'eterogeneità della materia prima, non è sufficientemente probatorio se non per i valori limiti.

Tuttavia, allo stato attuale, dal quadro della composizione chimica, dagli indici chimici e dai risultati fisico-chimici, è possibile formulare un giudizio abbastanza fondato sulla genuinità dell'aceto.

Si impone infine un aggiornamento della legislazione e della regolamentazione per la preparazione dell'aceto ed una revisione dei metodi di analisi e di apprezzamento.

SUMMARY

A BIOCHEMICAL AND PHYSICOCHEMICAL STUDY OF WINE VINEGAR

by E. Garino-Canina and P. Falchi

With the biochemical and physicochemical study of vinegars of sure genuineness, the authors have proposed to examine the physicochemical constants and the secondary products of the chemistry of the acetic fermentation with the object of seeing if it is possible to identify the vinegars of fermentation from those sophisticated with synthetic acetic acid.

The judgment of the genuineness based exclusively on the chemical composition, given heterogeneity of the raw material, is not sufficiently probatory except for limited values.

However, in the actual state, from the picture of the chemical composition, from the chemical indices, and from the physicochemical results, it is possible to formulate a sufficiently well founded judgment on the genuineness of the vinegar.

Finally, there should be a change in the legislation and the regulations for the preparation of vinegar and a revision of the methods of analysis and appraisal.

BIBLIOGRAFIA

Antoniani, C. Lezioni di chimica delle fermentazioni. Milano, Edizione Ambrosiana, 1945.

Garino-Canina, E. Metodo del Prof. Pratolongo per la differenziazione degli aceti naturali da quelli sintetici. (Relazione ministeriale inedita).

Garino-Canina, E. Il 2-3 butilenglicole e l'acetilmetilcarbinolo nei vini e negli aceti. *Annali di Chimica Applicata*, 1933, vol. 23, fasc. 1.

Garino-Canina, E. L'aceto di vino. Contributo allo studio chimico-biologico della fermentazione acetica del vino. Torino, Stab. Tipogr. Moderno, 1925.

Falchi, P. La sorbite nei vini del Piemonte e della Liguria. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1951, n. s., vol. V, n. 5.

Marescalchi, A. L'aceto di vino. Casale Monferrato, Edizioni Marescalchi, 1924.

Pratolongo, U., e Sartori, G. P. I caratteri analitici differenziali fra aceti di fermentazione ed aceti artificiali. *La Chimica e l'Industria*, 1925.

Verona, O. L'aceto. Città di Castello, Edizioni Dante Alighieri, 1942.

Van Lear. La chimie des fermentations. Liége, Ed. Disoer, 1949.

Van Lear. Manuel suisse des denrées alimentaires. Berne, Zimmermann, 1939.

Marcelli, E. Contributo alla conoscenza dei batteri acetificanti. *Rivista di Viticoltura ed Enologia*, 1952, anno V, n. 3.

De Rosa, T. Indagine sulla composizione dell'aceto di vino. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1952, n. s., vol. VI. n. 2.

Scurti, F. Sul metodo Pratolongo per differenziare gli aceti di alcool dagli aceti artificiali. Ricerche sperimentali. *Annali della Sperimentazione Agraria*, 1948, n. s., vol. II, n. 5.

Frateur, J., et Simonart, P. Etude de la flore bactérienne d'un acétificateur de vinaigre d'alcool. IX Congresso Internazionale Industrie Agrarie, Roma, 1952.

Wiame, J. M., et Lambiom, R. Culture pure ed vinaigrerie. IX Congresso Internazionale Industrie Agrarie, Roma, 1952.

Diemair-Kleter, vedi Peynaud, E., et Lafou. *Industrie Agricole et Alimentaire*, mai 1952, n° 5.

Ricevuto il 14 giugno 1952.

ISTITUTO DI CHIMICA AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ
(Direttore: Carlo Ferrari)
BOLOGNA

Carlo Ferrari

SUL POTERE ASSORBENTE DELLA CARTA DA FILTRO E DEL TERRENO VERSO IL "BLEU DI MOLIBDENO FOSFORATO" *

Come è ben noto, le leggi che regolano l'assorbimento della luce da parte dei liquidi sono valide solo nel caso in cui questi siano trasparenti e perfettamente limpidi.

La necessità di ottenere soluzioni limpide ha indotto chi scrive a prendere in esame la possibilità di sottoporre a filtrazione le soluzioni di « bleu di molibdeno fosforato », che si presentassero torbide od opalescenti, fin da quando si è occupato per la prima volta del dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico (1) : le prove eseguite mostrarono però che il colore viene trattenuto in modo molto evidente dalla carta da filtro e fecero concludere che non è assolutamente possibile render limpide, mediante filtrazione per carta, soluzioni di bleu di molibdeno fosforato. È necessario precisare che allora si operò sempre con soluzioni ottenute in condizioni di netta acidità solforica, a pH intorno a 0,8 o inferiori, per impedire la formazione del così detto « bleu di molibdeno puro » — composto dell'ossido di molibdeno pentavalente con l'acido molibdico — la cui comparsa renderebbe impossibile il dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico.

In un recentissimo studio (3) si è dimostrata la possibilità di far avvenire la formazione del « bleu di molibdeno fosforato » a pH compresi tra 4 e 5, in modo da impedire o comunque contenere in limiti modesti l'idrolisi degli esteri fosforici, anche labili, quando questi si trovino nella soluzione in esame assieme a fosfati minerali. Il procedimento si fonda sul fatto, già osservato da tempo (2), ma non utilizzato ancora a scopo analitico, che la formazione del « bleu di molibdeno puro » può essere impedita non solo con le grandi quantità di acido solforico a suo tempo prescritte, ma anche in condizioni di debole acidità, a pH intorno a 4-5.

* Lavoro eseguito con una sovvenzione del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste.

Avendo presente la notevole influenza che in generale il pH esercita sulle proprietà degli assorbenti, oggi tanto usati nella tecnica cromatografica (5), si è pensato di riprendere in esame il problema sottoponendo a filtrazione per carta soluzioni di bleu di molibdeno fosforato ottenute nelle condizioni di debole acidità.

Le esperienze riportate nella parte sperimentale dimostrano che la carta da filtro assorbe il bleu di molibdeno fosforato in misura notevolmente diversa quando il pH delle soluzioni sia fatto variare entro limiti piuttosto ampi: mentre, come si è detto, ai pH inferiori a 1 essa assorbe questo bleu in misura notevolissima, nelle condizioni di debole acidità (pH 4-5) non lo assorbe che in misura praticamente trascurabile.

Ciò rende possibile filtrare mediante carta soluzioni debolmente acide di bleu di molibdeno fosforato che si presentino lievemente torbide od opalescenti e quindi ottenere, anche in questi casi, liquidi limpidi suscettibili di esser sottoposti a misure fotometriche: e questo è già un grande vantaggio.

La detta constatazione ha indotto a studiare il comportamento del terreno verso il bleu di molibdeno fosforato in soluzioni a diverso grado di acidità: l'esperienza ha dimostrato che, analogamente alla carta da filtro, anche il terreno assorbe questo bleu in misura praticamente trascurabile da soluzioni debolmente acide, mentre lo assorbe in misura notevole da soluzioni nettamente acide.

Sulla base di questi fatti si è potuto affrontare il problema del dosamento ceruleo-molibdimetrico dell'acido fosforico minerale in estratti acquosi di terreno, facendo avvenire la formazione del complesso fosfomolibdico e la sua riduzione a bleu di molibdeno fosforato in presenza del terreno stesso — secondo un originale procedimento che formerà oggetto di una prossima comunicazione — e filtrando poi per carta le soluzioni da sottoporre alle misure fotometriche.

Parte sperimentale

In base a quanto è stato detto nella citata nota (3), si sono preparati volumi convenienti di soluzione di bleu di molibdeno fosforato in mezzo debolmente acido usando i reattivi * nei seguenti rapporti: una quantità di fosfato monopotassico corrispondente a 1 mg di P_2O_5, opportunamente diluita con acqua, è stata addizionata di 20 cc del reattivo molibdico a), di

* a) soluzione acquosa all'1,44 % di molibdato d'ammonio Merck: ogni cc contiene una quantità del sale corrispondente a circa 12 mg di MoO_3; b) soluzione acquosa al 2,5 % di acido ascorbico, preparata di recente.

8 cc del riducente b) ed è stata portata con acqua al volume di 200 cc. Il pH di questa soluzione è circa 4 *. Dopo 10 minuti di riposo alla temperatura ambiente (circa 20° C), la reazione di riduzione dell'acido fosfomolibdico a bleu di molibdeno fosforato può ritenersi completa.

A partire dalla soluzione madre sopra detta si sono preparate soluzioni di concentrazione metà, rispettivamente di pH 4 e di pH 0,7, diluendo a 100 cc porzioni aliquote di 50 cc ciascuna della soluzione madre, rispettivamente con sola acqua ovvero aggiungendo, oltre all'acqua, 5 cc di H_2SO_4 8 N.

È opportuno che le soluzioni che devono servire per studiare il comportamento degli assorbenti considerati verso il bleu di molibdeno fosforato siano abbastanza diluite, per rendere più evidente il fenomeno.

Le misure fotometriche sono state eseguite con lo Spettrofotometro Universale di Coleman, modello 14, e le misure di pH col Potenziometro di Beckman, modello « G ».

Assorbimento del bleu di molibdeno fosforato da parte della carta da filtro

Si sono usate carte da filtro Schleicher & Schüll n. 589², fascia bianca, marca « Selecta », e di qualità comune, in dischi del diametro di cm 11. Le variazioni di concentrazione del bleu conseguenti alla filtrazione sono espresse in percento assoluto dell'estinzione che compete alla soluzione non filtrata : come è noto, l'estinzione è proporzionale alla concentrazione per la legge di Beer.

I 100 cc di soluzione diluita impiegati per ogni prova sono stati suddivisi in due porzioni : una, di 10 cc, non è stata filtrata ; l'altra, di 90 cc, è stata filtrata attraverso la carta del tipo segnato nella tabella I, nella quale sono riportati, a titolo indicativo, i risultati di alcune esperienze.

I risultati delle prove effettuate mostrano la netta influenza che il pH esercita sull'entità dell'assorbimento del bleu di molibdeno fosforato da parte della carta da filtro : da poche unità per cento, in valore assoluto, anche per soluzioni debolmente colorate, l'assorbimento sale a percentuali ragguardevoli quando il pH venga portato da 4-5 a valori inferiori a 1 (vedi prove 1, 1′, 3 e 3′ della tabella I).

---

* Il pH può variare da circa 4 a circa 5, a seconda del molibdato d'ammonio che si impiega perchè, come è noto, esistono in commercio dei prodotti più ricchi in ammoniaca di quello che corrisponde alla formula $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4\ H_2O$.

TABELLA I

Prova n.	pH della soluzione	Tipo della carta da filtro	Aspetto del filtro dopo la filtrazione	Traspa-renza a 650 mμ T %	Estin-zione specifica k	Diffe-renza Δk	Varia-zione %
1	4,0	—	—	69,8	0,156		
1'	4,0	S. & S. N° 589[2]	pratic. incol.	70,1	0,154	—0,002	— 1,28
2	4,0	—	—	69,8	0,156		
2'	4,0	comune	pratic. incol.	64,1	0,193	+0,037	+23,72
3	0,7	—	—	66,1	0,180		
3'	0,7	S. & S. N° 589[2]	assorb. evid.	70,6	0,151	—0,029	—16,11
4	0,7	—	—	66,1	0,180		
4'	0,7	comune	assorb. evid.	58,2	0,235	+0,055	+30,55

Si può concludere che l'assorbimento del bleu da parte della carta da filtro in mezzo debolmente acido è contenuto in limiti molto modesti e può essere considerato trascurabile quando il volume del liquido filtrato sia ragguardevole (100 cc o più). Se i 100 cc vengono suddivisi in 4 porzioni da 25 cc ciascuna e le singole porzioni vengono filtrate attraverso allo stesso filtro, raccogliendo separatamente i filtrati, si nota una nettissima diminuzione dell'assorbimento dal primo all'ultimo filtrato, come se, una volta saturato il filtro, la soluzione passasse praticamente inalterata. Nelle condizioni di debole acidità il colore azzurrognolo della carta, uniformemente distribuito, è causato dal liquido che la imbeve.

Invece quando si filtrino soluzioni nettamente acide, la carta assorbe il colore in modo evidente e appare colorata in bleu non uniformemente, ma a chiazze: il colore viene trattenuto e non diffonde assieme al solvente.

Le prove eseguite con carta da filtro comune, di diverse qualità, hanno messo in evidenza un fatto di notevole importanza pratica: mentre l'aspetto delle carte di qualità comune dopo la filtrazione fa ritenere che esse si comportino in modo analogo alla carta Schleicher & Schüll verso il bleu di molibdeno fosforato, si nota che l'estinzione della soluzione filtrata è notevolmente maggiore di quella della porzione non filtrata. Nei tipi di carta comune che sono stati impiegati si è constatata la presenza di acido fosforico in quantità sensibile (mg 0,23 di P_2O_5 per disco di 11 cm di diametro nel tipo che ha fornito i dati riportati nella tabella I): evidentemente durante la filtrazione la carta cede alla soluzione una certa quantità di questo acido fosforico (variabile, tra l'altro, in dipendenza del pH della soluzione) ed esso si trasforma in acido fosfo-molibdico e quindi in bleu di molibdeno fosforato.

La possibilità di questa interferenza di notevole entità (vedi prove 2 e 2' della tabella I) da parte dell'acido fosforico che può essere ceduto

dal filtro, impone l'uso di carte esenti di acido fosforico quando si vogliano filtrare soluzioni debolmente acide di bleu di molibdeno fosforato allo scopo di renderle limpide: è consigliabile eseguire sempre prove in bianco preliminari che assicurino della « purezza » della carta, per escludere questa causa d'errore che potrebbe falsare profondamente i risultati.

Assorbimento del bleu di molibdeno fosforato da parte del terreno

Si sono scelti per le prove campioni di terreno di diversa composizione, poveri o esenti di calcare per non modificare troppo il pH, e che non fossero in grado di cedere quantità apprezzabili di fosfati o di silice solubile nel tempo di contatto con le soluzioni del bleu.

Si è operato mettendo in intimo contatto, mediante sbattimento, porzioni di 100 cc delle soluzioni diluite, rispettivamente di pH 4 e di pH 0,7, preparate nel modo anzi detto, con quantità diverse di terreno (1, 2 e 4 grammi), in modo da variare il rapporto terreno : soluzione da 1 : 100 a 1 : 50 a 1 : 25. Dopo agitazione di qualche minuto, le sospensioni venivano filtrate per filtro Schleicher & Schüll di 11 cm di diametro e sottoposte alle misure fotometriche.

I risultati di alcune prove, a titolo indicativo, sono riportati nella tabella II:

Tabella II

Prova n.	pH della soluzione filtrata	Tipo di terreno	Grammi di terreno	Rapporto terreno : soluzione	Trasparenza a 650 mμ T %	Estinzione specifica k	Differenza Δk	Variazione %
1	4,0	—	—	—	69,8	0,156		
2	4,0	brughiera	1	1 : 100	70,1	0,154	— 0,002	— 1,28
3	4,1	»	2	1 : 50	70,8	0,150	— 0,006	— 3.84
4	4,2	»	4	1 : 25	71,2	0,148	— 0,008	— 5,12
5	4,0	—	—	—	69,8	0,156		
6	4,1	umifero-argilloso	1	1 : 100	70,0	0,155	— 0,001	— 0,64
7	4,2	» »	2	1 : 50	70,8	0,150	— 0,006	— 3,84
8	4,4	» »	4	1 : 25	72,0	0,143	— 0,013	— 8,33
9	0,7	—	—	—	66,1	0,180		
10	0,7	brughiera	1	1 : 100	76,0	0,119	— 0,061	— 33,89
11	0,7	»	2	1 : 50	78,6	0,105	— 0,075	— 41,66
12	0,7	»	4	1 : 25	83,0	0,081	— 0,099	— 55,00
13	0,7	—	—	—	66,1	0,180		
14	0,7	umifero-argilloso	1	1 : 100	81,3	0,090	— 0,090	— 50,00
15	0,7	» »	2	1 : 50	90,0	0,046	— 0,134	— 74,44
16	0,7	» »	4	1 : 25	98,0	0,009	— 0,171	— 95,00

I risultati di queste e di altre numerose prove eseguite con svariati tipi di terreno permettono di concludere che anche questo trattiene il bleu di molibdeno fosforato in misura praticamente trascurabile quando la soluzione sia debolmente acida e il volume di essa che viene posto a contatto del terreno sia ragguardevole, specie se il rapporto terreno : soluzione sia dell'ordine di 1 : 100, 1 : 50.

* * *

Prove eseguite in modo del tutto analogo con soluzioni di « bleu di molibdeno siliciato » hanno mostrato che anche questo viene assorbito, sia dalla carta da filtro che dal terreno, in misura notevolmente diversa a seconda del pH della soluzione : in ambiente poco acido (pH intorno a 4-5) anche il bleu di molibdeno siliciato non viene praticamente assorbito nè dalla carta nè dal terreno, mentre in ambiente nettamente acido (pH inferiori a 1), viene assorbito in misura notevole.

La soluzione madre di bleu di molibdeno siliciato può venir convenientemente preparata nel modo seguente : una quantità di soluzione di silicato di sodio corrispondente a circa 4 mg di SiO_2 solubile viene addizionata di 20 cc del reattivo molibdico, di 8 cc del riducente e portata con acqua al volume di 200 cc : anche in questo caso il pH della soluzione è compreso tra 4 e 5 a seconda della composizione del molibdato d'ammonio. Per ottenere una colorazione bleu sufficientemente intensa occorre attendere circa 30-60 minuti, a seconda della temperatura, perchè, al pH considerato, la formazione dell'acido silico-molibdico è molto lenta e avviene solo parzialmente, anche prolungando il tempo di attesa (4).

RIASSUNTO

Viene dimostrato che il potere assorbente della carta da filtro e del terreno verso soluzioni di « bleu di molibdeno fosforato » è influenzato in misura considerevole dal grado di acidità : l'assorbimento è praticamente trascurabile in ambiente poco acido (pH 4-5) ed è invece notevole ai pH inferiori a 1.

Si è constatato che il comportamento di detti assorbenti verso il « bleu di molibdeno siliciato » è del tutto analogo.

Questi fatti rendono possibile la determinazione colorimetrica dell'acido fosforico minerale in estratti di terreno, facendo avvenire la reazione cromatica in presenza del terreno stesso e filtrando le soluzioni da sottoporre alle misure fotometriche.

SUMMARY

THE ADSORPTIVE POWER OF FILTER PAPER AND SOIL TOWARDS 'PHOSPHORATED MOLYBDENUM BLUE'

by CARLO FERRARI

Adsorptive power of filter paper and soil towards solutions of 'phosphorated molybdenum blue' has been found to be largely influenced by the pH : the adsorption is practically negligible at low acidity (pH 4-5), while it is considerable at pH levels below 1.

The two adsorbents behave similarly towards 'silicated molybdenum blue'.

These statements make it possible to determine colorimetrically the mineral phosphate in soil extracts, the chromatic reaction occurring in the presence of the soil itself and the solutions being filtered before photometric measurements are made.

BIBLIOGRAFIA

(1) FERRARI, C. Ricerche di microanalisi fotometrica. IV. - Dosamento colorimetrico dell'acido fosforico. *Memorie Accad. Scienze Istituto*, Bologna, 1935-36, serie IX, tomo III, 57-65; Analisi microchimiche colorimetriche. Bologna, Ed. Dr. Cesare Zuffi, 1947, 47-64.

(2) FERRARI, C. I bleu di molibdeno e il dosamento colorimetrico dell'acido fosforico in presenza di acido silicico. *Memorie Accad. Scienze Istituto*, Bologna, 1936-37, serie IX, tomo IV, 63-68; e l. c. (1).

(3) FERRARI, C. Sul micro-dosamento fotometrico dell'acido fosforico minerale in presenza di esteri fosforici. Questi *Annali*, 1952, n. s., VI.

(4) FERRARI, C. Ueber die photometrische Mikrobestimmung der Kieselsäure. *Mikrochemie*, Wien 1951, 36-37, 585-593.

(5) ZECHMEISTER, L. Progress in chromatography, 1938-1947. New York, John Wiley & Sons, Inc., 1950.

Ricevuto il 17 giugno 1952.

LABORATORIO SPERIMENTALE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Michele Cristinzio)
PORTICI

RENATO VERNEAU

MARCIUME DELLA CORONA FOGLIARE DI *HOWEA FORSTERIANA*

Nel settembre del decorso anno si è avuta occasione di osservare, in un giardino di Portici, un grave deperimento di una coltivazione di *Howea,* la « palma da salotto », volgarmente confusa con la più rara e pregiata *Kentia.* Il deperimento interessava circa il 30 % delle piante.

Le piante, allevate in vaso e mantenute sotto alberi di arancio, erano di varia età ed appartenenti alla specie *H. forsteriana.* Il terreno contenuto nei vasi era composto per 2/3 di terriccio di bosco (quercia) e per 1/3 di terreno vulcanico, concimato con cessino.

Si poterono osservare tutti gli stadî del deperimento, cioè piante che presentavano una o due foglie in via di disseccamento, piante completamente marcite e piante che presentavano stadî intermedî.

Il primo sintomo della malattia è dato da un impallidimento della foglia più esterna, seguìto in breve da un disseccamento apicale e marginale degli apici delle fogliole, mentre una colorazione bronzea si manifesta sulla rimanente superficie fogliare. A mano a mano che il disseccamento procede, le fogliole si accartocciano, ripiegando i margini verso l'interno. Subentra in ultimo il caratteristico colore delle foglie secche. Il disseccamento ha inizio dalla foglia più esterna e quindi più vecchia ed investe le altre foglie, seguendo o non il verticillo d'inserzione. Quindi sulla stessa pianta si notano foglie secche, foglie di color bronzeo, foglie clorotiche e foglie sane. Infine anche le foglie centrali, ancora chiuse, si disseccano completamente e non resistono alla trazione, rivelando che i tessuti sotto-

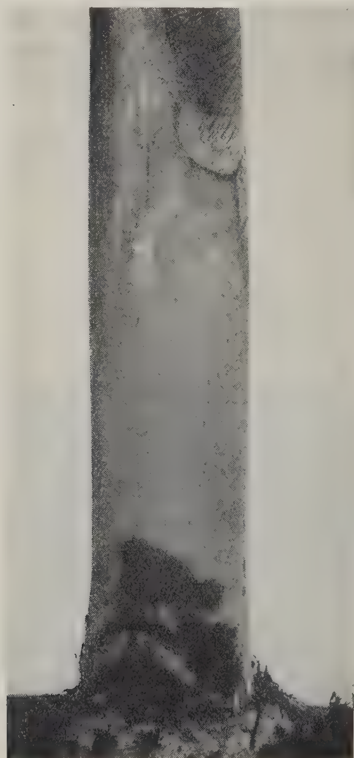


FIG. 1. – Pianta di *Howea* attaccata da *Phytophthora palmivora.*

stanti sono completamente decomposti in una specie di pasta rosata che ha consistenza ed odore di burro alterato. La morte della pianta sopravviene dopo 3-5 mesi (a seconda l'età) dalla comparsa dei primi sintomi (fig. 1).

Sulle lamine e sulle guaine non si riscontrano mai parassiti capaci di provocare in così breve tempo la morte della pianta. Sezionando un picciolo di foglia deperente non si riscontrano decolorazioni od altri sintomi che possano lasciar pensare ad azione di funghi o batteri tracheifili. Anche le radici di piante, che non siano ancora in stato di avanzato deperimento, appaiono sane od almeno non presentano gravi lesioni. Infatti va notato che le prime manifestazioni del male, procedendo lentamente, non permettono di osservare la gravità del danno se non quando questo è irreparabile per il completo marciume del « cuore ».

Liberando l'apice dello stipite dai residui delle foglie asportate, e che avvolgono la base delle foglie presenti, in modo da mettere a nudo la guaina di foglie in via di disseccamento, si notano, in risalto sul colore chiaro dei tessuti ancora sani, delle chiazze irregolari di color mattone scuro. Tali chiazze si diffondono nei tessuti con andamento dall'esterno verso l'interno e dall'alto in basso, interessando in primo tempo la parte basale delle foglie e successivamente i tessuti dello stipite, che è rapidamente investito (fig. 2).


FIG. 2.
Tipica macchia alla base delle guaine.

Sezionando lo stipite a varie altezze si nota come, a mano a mano che ci si avvicina al punto, dove le foglie sono inserite, i tessuti siano sempre più e profondamente intaccati.

Le sezioni di tessuto prelevato nella zona marginale delle chiazze mostrano un micelio jalino, intercellulare, non settato, ramificato, ricco di plasma granuloso. Esso invia nelle cellule contigue austori rotondeggianti. La sostanza protoplasmatica dei tessuti muore e si ingenera il colore scuro determinante le chiazze.

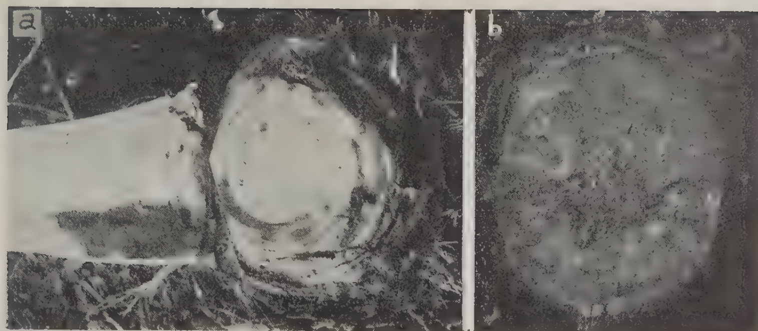


FIG. 3. – Sezioni trasversali effettuate alla base delle guaine (a) ed allo stipite (b).

Nei tessuti, dove il fungo ha già effettuato la sua azione, il micelio attraversa anche il lume delle cellule. Ben presto nelle parti attaccate si sviluppa tutta una flora saprofitaria che accelera la distruzione dei tessuti. Non sono stati osservati organi di riproduzione (fig. 3).

Da semine effettuate su Czapek agarizzato sono state ottenute rapidamente colonie lasche, costituite da micelio jalino non settato, ramificato, con discreto sviluppo di micelio aereo specialmente nei punti insemenzati. Dopo 3 giorni sono stati osservati conidi isolati, inseriti all'apice di ife immerse. Col progredire delle osservazioni colturali, tali conidi si sono rivelati quali sporangi di un Ficomicete, e ben presto al disotto di ognuno di essi è comparsa una ramificazione che portava un altro sporangio. A sua volta, alla base del secondo sorgeva una terza ramificazione portante un altro sporangio, ottenendosi, in definitiva, un'ifa sulla quale sono inseriti 5-10 sporangi su altrettante ramificazioni laterali.

Gli sporangi sono di forma variabile, dall'ovale al piriforme, a volte notevolmente allungati, forniti di papilla apicale nettamente pronunziata, di membrana sottile e leggermente ispessita, dove lo sporangio è inserito, per mezzo di un peduncolo, sull'ifa. Gli sporangi si staccano facilmente e resta quasi sempre visibile parte del peduncolo. Nell'interno dello sporangio, allorchè è maturo, ed in presenza di umidità, si notano numerose zoospore che, in presenza di acqua, ed a 25-27°, fuoriescono attraverso la papilla, allungandosi notevolmente nell'uscire, per prendere poi una forma tra rotondeggiante e reniforme. Appena libere le zoospore si muovono rapidamente per qualche minuto (a temperatura ambiente), rallentando a mano a mano fino a fermarsi, assumendo allora forma rotondeggiante. Quando esse sono in moto, presentano leggermente appiattito il lato dove, in prossimità di un vacuolo, sono inserite le due

ciglia. Le zoospore germinano emettendo uno o due tubi promicelici allorchè si sono fissate sul substrato. Nei mezzi solidi spesso le germinazione avviene nello stesso sporangio ed allora i tubi promicelici fuoriescono o attraverso la papilla apicale o forando la parete dello sporangio, dando a questi un caratteristico aspetto spinuloso.

Gli sporangi possono emettere, però, anche una specie di vescicola granulosa e, a volte, dar luogo ad un altro sporangio in modo che non è raro trovare una successione di sporangi formata da due o tre elementi.

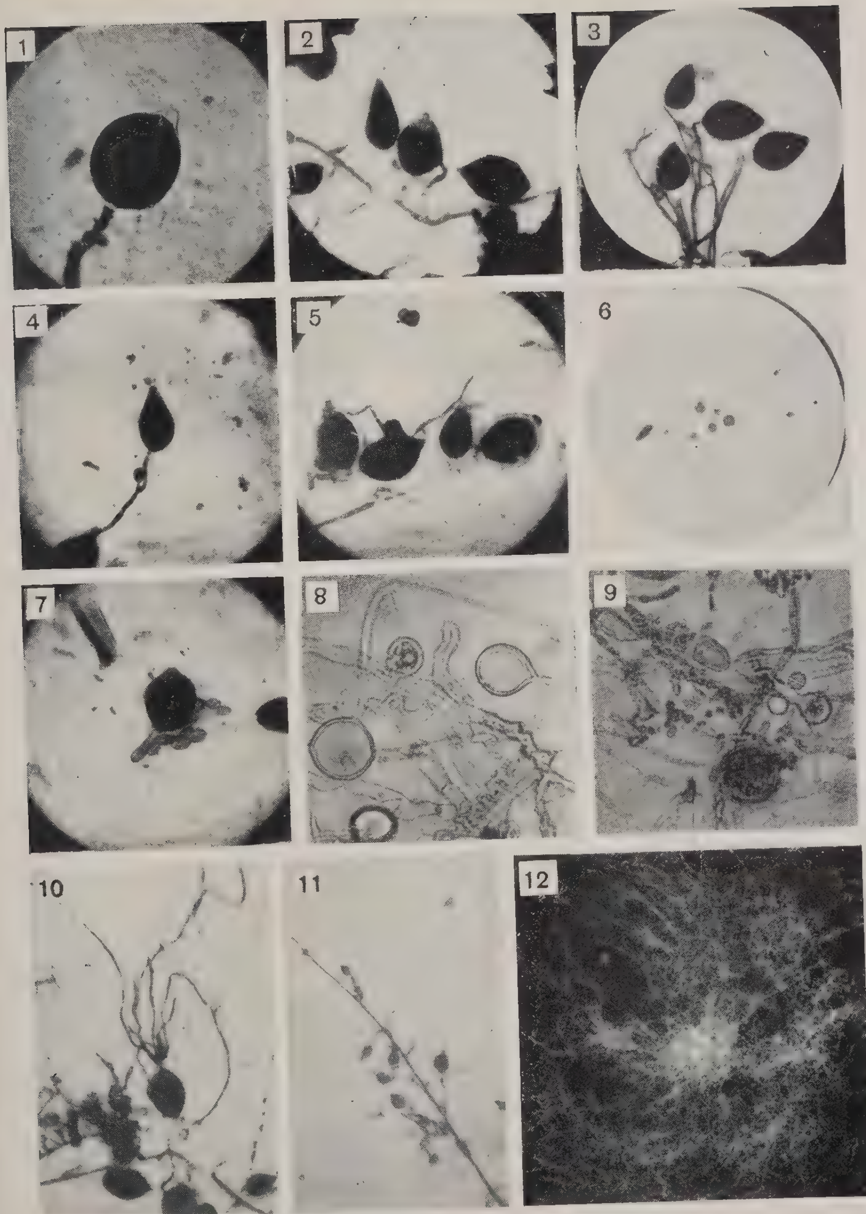
Non sono stati notati in coltura organi di riproduzione sessuale. Dopo un periodo di tempo variabile (in relazione specialmente col terreno e con la temperatura) si notano clamidospore apicali od intercalari provviste di una sottile membrana, jaline quando sono giovani, e di color leggermente giallo quando sono mature. Esse hanno la possibilità di germinare dopo un certo periodo, anche quando tutti gli altri organi della coltura sono incapaci di dar luogo ad un'altra colonia.

Dalle caratteristiche suesposte è stato individuato il fungo come appartenente al genere *Phytophthora*. La determinazione delle specie appartenenti a questo genere e la loro classificazione è sempre stata ostacolata dalla grande variabilità (18), sia in natura che in coltura, degli individui fungini che compongono la stessa specie. Tale difficoltà è stata indubbiamente influenzata dal gran numero di specie, create senza che vi fossero sicuri elementi di differenziazione.

Il Wilson (36), il Rosenbaum (27), il Dufrenoy, il Sideris (31), il Tucker (35) e il Leonian (11), per non ricordare che i più noti, hanno cercato di stabilire una classificazione delle specie di *Phytophthora*. Il Leonian ha per ultimo (1934) (18) stabilita una chiave per separare quelle specie che egli ritiene possibile identificare con sicurezza. « Questo proprio per appiccicare un nome a quelle specie che ci possono capitare ». Infatti l'autore ritiene (anche se lo giudichi prematuro alla stregua delle attuali conoscenze) che si possano distinguere solo tre specie di *Phytophthora*, costituite da tanti individui, alcuni dei quali con caratteristiche costantemente fisse ed altri con caratteristiche in costante stato di flusso. Le « specie » identificabili per mezzo delle chiavi sono 22.

Allo scopo di tentare la determinazione della specie in esame, questa è stata coltivata su diversi terreni specifici o non, e si sono seguìte le tecniche suggerite da vari autori, ed in particolare dal Leonian (18).

Si riassumono le caratteristiche colturali sui principali terreni nutritivi usati. È ben noto (12, 18, 36), però, che da tali caratteristiche non è possibile stabilire alcunchè di sicuro — se presi come caratteri diagnostici a sè stanti — dato l'estremo polimorfismo delle singole specie. Tipico esempio la variabilità delle dimensioni medie e della forma di certi organi.



1, 2, 3: sporangi di *Phytophthora palmivora*; 4: formazione simpodiale di un nuovo sporangio; 5: germinazione laterale di uno sporangio; 6: zoospore; 7: zoospore fuoruscenti da uno sporangio; 8 e 9: clamidospore; 10: germinazione apicale di uno sporangio; 11: ifa fertile; 12: micelio aereo su agar–avena.

A questo proposito lo stesso Leonian (14) suggerì l'adozione di una particolare tecnica per effettuare in condizioni standard, facilmente riproducibili da ogni ricercatore, osservazioni e misurazioni. Purtroppo tale prova è ritenuta dallo stesso autore non attendibile.

Agar estratto di malto-lievito*. — Sono state ottenute colonie di 3-4 cm in tre giorni a 26°. Colonie lasche, costituite da micelio molto ramificato; discreta presenza di micelio aereo. Ife sommerse di due tipi: la massa costituita da ife lisce semplicemente ramificate (a pettine); le altre da ife spesse, rigonfie, irregolari, fittamente ravvicinate e che assumono l'aspetto di cespuglietti. Scarsa fruttificazione a 20°, massima a 26°-27°, coincidente con il massimo sviluppo. Clamidospore presenti in colture di 15-20 gg. Mancano organi sessuali.

Agar avena, come in Rawlings (25). — Al terzo giorno colonie di 4-5 cm. Micelio aereo abbondante, ma deprimentesi a mano a mano. Micelio immerso lasco; minore prevalenza delle ife semplici. Fruttificante anche al terzo giorno con temperatura di 25°. Massima fruttificazione e sviluppo a 27°. Presenza di clamidospore anche prima del 15° giorno. Mancano organi di riproduzione sessuale.

Agar-granoturco, come in Rawlings (25). — Le colonie si differenziano dalle precedenti per una maggior rapidità di accrescimento e per una maggiore presenza di grumi di ife. Minor quantità di micelio aereo.

Agar prugne (infuso di prugne agarizzato). — Colonie scarsamente sviluppate. Predominanza assoluta del tipo di ife a grumi, sviluppantesi ad aloni concentrici. Sporangi numerosi nei primi giorni, con papilla apicale e membrana molto più accentuata ed ispessita. Assenza di organi sessuali ed abbondanza di clamidospore.

Patata sterile. — Abbondante produzione di micelio aereo, rigido, fioccoso, sterile.

È stata poi seguìta la tecnica suggerita in un primo tempo dal Leonian (15), intesa ad ottenere sporangi in condizioni standard in coltura. Sono stati coltivati frammenti di micelio in terreno liquido specifico **.

---

* Estratto di malto gr 3; estratto di lievito gr 2; KH_2PO_4 gr 0,5; $MgSO_4$ gr 0,5. Agar gr 20; H_2O cc 1000. Si usano cc 15 per colture in piastre e 10 per colture in tubo.

** Acido nucleinico gr 1; PO_4HK gr 0,6; $Mg.SO_4$ gr 0,3; destrosio gr 3,6; H_2O 1000 cc: 25 cc per piastra da 35 cc.

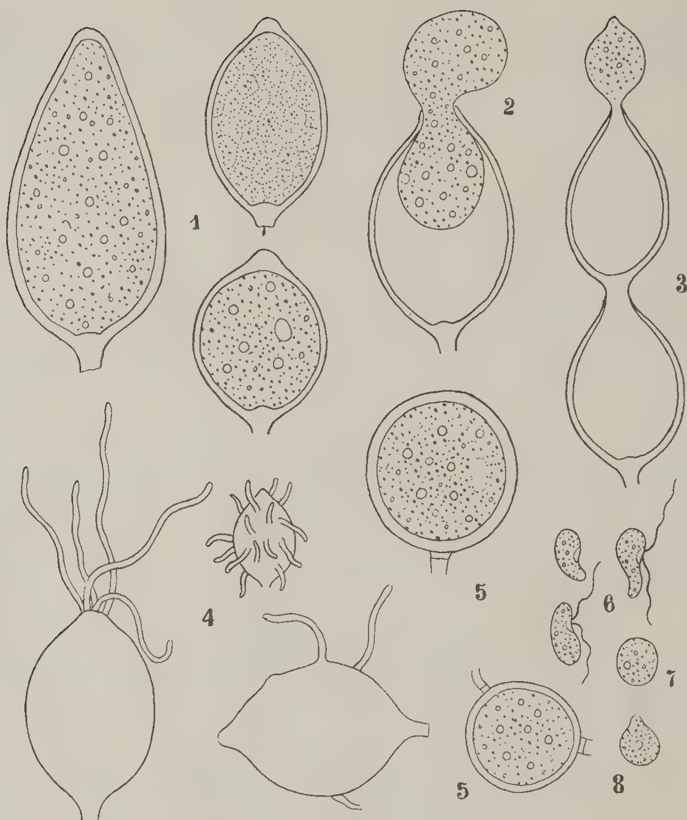


FIG. 4
1: varie forme di sporangi; 2: sporangio germinante a mezzo di vescicola; 3: sporangio che dà origine ad altri sporangi; 4: tubi promicelici uscenti dalla papilla o attraverso la parete dello sporangio; 5: clamidospore; 6: zoospore in movimento; 7: zoospora fissata; 8: zoospora germinante

Le colonie sono costituite da ife semplici e da ife vescicolose irregolari, turgide, variamente ramificate. Dopo 3 giorni d'incubazione a 25° le colonie sono state trasferite in acqua distillata sterile per lavarle, ed infine sono state passate in una soluzione 1·00/N di nitrato di potassio.

Dopo 3 giorni si è proceduto alla misurazione. Sono stati osservati tre gruppi di sporangi: 1/3 della massa costituito da sporangi vuoti, un terzo da sporangi maturi ed in via di liberare le zoospore ed un terzo da sporangi immaturi. Gli sporangi, per quanto riguarda i due primi gruppi, mostrano una sensibile uniformità di dimensioni e di forma,

purchè si tratti dello stesso isolato, nei confronti di altri terreni liquidi quali quelli proposti da Fawcett (6) e dal Petri (23).

Nella tabella seguente si riportano i dati raccolti, effettuando un certo numero di misurazioni degli sporangi ottenuti sui vari substrati nutritivi.

Terreno	Numero della misurazione	Lunghezza		Lunghezza		Rapporto
		Estremi	Media	Estremi	Media	
Czapek agarizzato . . .	200	31,5–57	41,5	22–37	29,4	1,4
Agar-malto lievito	200	29 –60	41	27–33	26,9	1,5
Agar-granturco	100	27 –54	40	25–27	26,5	1,5
Agar-prugne	50	33 –42	37,5	24–29	27,5	1,5
Agar-avena	200	27 –61	44,3	25–37	25	1,7
1/100N KNO	300	40 –54	46,8	28–40	27,2	1,7
Melanzana (frutto)	100	22 –94	49,5	17,2–27	24,2	2
Peperone (frutto)	50	20 –92	50,9	12–17	23,4	2

In base a tali caratteri non è possibile raggiungere alcuna conclusione. Si è quindi seguìta la tesi del Leonian (18) onde poter usufruire delle chiavi sistematiche da lui compilate.

È noto che il Leonian basa la sua sistematica del genere sui caratteri biologici (comportamento nei confronti della temperatura, resistenza al verde malachite (16), capacità di formare organi di riproduzione in acqua sterile), integrati, solo in misura limitata, da caratteri morfologici.

Comportamento rispetto al fattore temperatura

La *Phytophthora* in esame cresce dopo sei giorni su agar-malto lievito a 20°; non si sviluppa ad 8°; si sviluppa a 27°, si sviluppa a 31°; sviluppo incostante a 35°; arresto di accrescimento a 37°.

Le prove relative alla temperatura sono state effettuate anche con terreno liquido (Leonian) senza notare differenza. Il Leonian ritiene che le osservazioni sulla temperatura devono essere effettuate con termostati molto precisi (oscillazione 2/10). Le prove suddette sono state effettuate con una oscillazione di 6/10. Pertanto la incostanza del comportamento del fungo a 35° — temperatura limite — può essere in relazione con la oscillazione di 6/10 del termostato.

Resistenza al verde malachite

Sono state preparate 5 serie di terreno nutritivo liquido del Leonian aggiungendo tanto verde malachite, rispetto al liquido nutritivo, da ottenere concentrazioni di 1 a 2 milioni, 1 a 3 milioni, 1 a 4 milioni, 1 a 8 milioni, 1 a 12 milioni. Dai bordi di giovani e ben sviluppate colture su piastre sono stati prelevati, per mezzo di ansa appositamente adattata, dischetti di inoculo, previa eliminazione del micelio aereo (15). L'uniformità dello spessore del substrato è stato assicurato usando 10 cc di terreno per capsule di 12 cm. In tal modo il dischetto aveva uno spessore di circa 2 mm ed un diametro di 5 mm. Il dischetto si lascia depositare al fondo del tubo per ottenere uniformità di condizioni. Dopo 2 settimane d'incubazione a 20° si è fatta la lettura dei valori ottenuti. Non si è ottenuta crescita in concentrazioni 1 a 2 milioni. Non costante e comunque lievissima crescita ad 1 a 3. Debole sviluppo in concentrazioni dell'1 a 4, discreto sviluppo in 1 a 8, migliore sviluppo in 1 a 12. Dopo tale esame si procedette nuovamente al controllo microscopico per evitare che eventuali inquinamenti potessero falsare i risultati.

Formazione di organi di riproduzione in H_2O

Quattro o cinque frammenti di giovane colonia si lasciano sviluppare per 3 o 4 giorni in 75 cc di brodo di pisello contenuto in capsule sterili di capacità di 100 cc. Per mezzo di pinze sterili le colonie ottenute vengono trasferite in una serie di capsule contenenti acqua distillata sterile e dilavate agitando lievemente la piastra. Si depongono infine le colonie in una capsula contenente solo un velo di acqua distillata sterile e si mantengono a 20° per 3 giorni. Si procede poi all'esame delle colonie ottenute. La *Phytophthora* isolata dall'*Howea* ha formato sporangi e clamidospore, con assoluta predominanza dei primi; assenti gli organi di riproduzione sessuale.

Seguendo quindi il criterio del Leonian è stata identificata la specie come *Phyt. palmivora* Butl. Infatti essa è l'unica specie le cui caratteristiche corrispondono a quelle indicate (mancato sviluppo a 37°, sviluppo in soluzioni di v. m. in concentrazione 1/8, formazione di sporangi e clamidospore in H_2O; assenza di organi sessuali di riproduzione su qualsiasi terreno colturale, essendo il ceppo eterotallico *.

---

* È da tempo noto che solo nel gruppo *palmivora-parasitica* si conoscono forme eterotalliche.

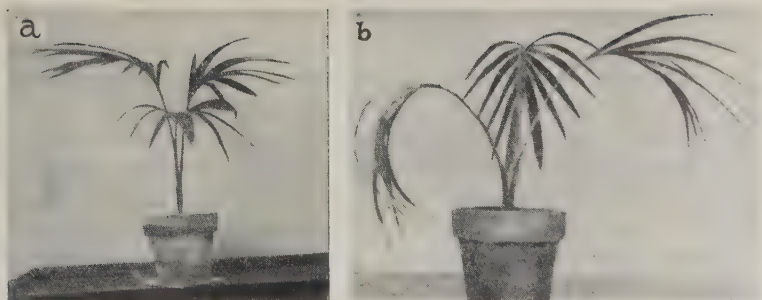


Fig. 5. – Giovane pianta di *Howea* prima dell'inoculazione artificiale (a); la stessa un mese dopo (b).

La conferma di tale diagnosi si ottiene se si seguono i criteri esposti dal Tucker in « The taxonomy of the genus *Phytophthora* » (36). Poichè i fattori relativi alla temperatura ed allo sviluppo sui vari terreni nutritivi sono stati già esposti, non resta che esaminare il fattore « patogenicità ». Tale fattore non è dal Leonian preso in considerazione data la sensibile variazione che si nota nei singoli ceppi di una stessa specie.

Sono state inoculate con colture pure del fungo, e con le modalità indicate nella citata opera, mele, melanzane, peperoni, pomodori, patate e kaki. In tutti i casi si è ottenuta una più o meno rapida diffusione del fungo in tutti gli organi colpiti (tra i 3 ed i 10 gg.). Interessante osservare che sui frutti di peperone e melanzana, specie nella parte del frutto poggiante sul sostegno, si è ottenuta un'abbondante fruttificazione dei tipici sporangi allungati che per lungo tempo erano stati ritenuti caratteristici della *Phyt. palmivora.*

Nel mese di giugno sono state inoculate alcune giovani piante di *Howea,* mantenute precedentemente in osservazione in serra riscaldata per vari mesi, per avere la sicurezza di operare su piante sane. Una pianta fu inoculata deponendo un frammento di cultura tra la guaina di una foglia e quella successiva più interna. Per diverse settimane la pianta non sembrò risentire dell'azione del parassita altro che per un arresto evidente dello sviluppo delle foglie centrali ancora chiuse. Solo nella seconda quindicina di luglio la foglia inoculata si disseccò, seguìta, successivamente, dalle altre. Ai primi di agosto la pianta era morta. I tessuti sottostanti al gruppo di foglie centrali, restate chiuse, presentavano la caratteristica marcescenza riscontrata su piante naturalmente infette. Dai tessuti della pianta fu reisolato il fungo che, riportato in cultura pura, ha avuto lo stesso comportamento rispetto ai fattori biologici tipici, nè ha mostrato

sensibili variazioni morfologiche paragonato ai primi isolati da infezione naturale.

Una seconda pianta fu inoculata per mezzo di sospensione acquosa di sporangi maturi, spruzzando la base della pianta e le guaine. La pianta non ha risentito alcun danno e ciò evidentemente per la difficoltà di mantenere un ambiente adatto a questo tipo di infezione che comunemente si hanno (9,26) per le piante di cacao e di *Hevea*, quando la pioggia spruzza, dall'acqua stagnante alla base delle piante, gocce contenenti zoospore. Prove di inoculazione per mezzo di spappolamento nel terreno di una coltura del fungo non hanno dato esito. Prove di inoculo per mezzo di ferita hanno determinato la morte della pianta in un tempo più breve del caso positivo anzi detto.

La *Phyt. palmivora* è l'agente del « bud-rot » delle palme. Essa fu segnalata per la prima colta dal Butler nelle Indie nel 1907 (3) dapprima come *Pythium*; successivamente lo stesso ricercatore, preceduto da Shaw (30) e da Sundaraman, che per primi riuscirono a coltivarla, trasferì il fungo nel gen. *Phytophthora*. L'Ashby (1) distinse per caratteri morfologici e patogeni diversi ceppi delle specie, che divise in due gruppi « Cacao » e « Gomma », stabilendo anche che da colture miste dei due gruppi si hanno organi di riproduzione sessuale che, salvo pochissime eccezioni, mancano in ceppi isolati. Lo stesso autore, seguìto e preceduto da altri, confermò la identità di *Phyt. faberi* e *Phyt. palmivora* (Butler (3), Lester-Smith (36), Reinking (26), Seal (32), Thomson, ecc.). Coleman (5) ed altri dimostrarono che *Phyt. palmivora* e *Phyt. theobromae* sono sinonimi, ed il Tucker (34) successivamente, fuse *Phyt. palmivora* con *Phyt. meadi* e con *Phyt. arecae*. Nel 1931 il Leonian (17) dimostrò che la maggior parte dei ceppi di *Phyt. palmivora* sono eterotallici, pochi omotallici, altri incostanti e neutri. Infine lo stesso autore (18) ha fuso con *Phyt. palmivora*: *Phyt. parasitica* Dast., *Phyt. allii, Phyt. arecae, Phyt. caricae, Phyt. faberi, Phyt. fici, Phyt. jatrophae, Phyt. manaona, Phyt. meadii, Phyt. melongenae, Phyt. mexicana, Phyt. nicotianae, Phyt. parasitica, Phyt. parasitica-rhei, Phyt. tabaci, Phyt. terrestris* e *Phyt. theobromae.*

Thomas, Ramakrishan ed altri (33, 19), accoppiando due a due 25 ceppi di *Phyt. palmivora,* poterono stabilire l'appartenenza al gruppo (+) degli isolati da *Areca* (Nilekani), *Piper betel, Citrus, Clerodendron infortunatum, Colocasia antiquorum, Artocarpus integrifolia, Solanum lycopersicum* ed al gruppo (—) *Areca* (Tygali), *Borassus, Cocos, Hevea, Artocarpus incisa, Spondias, Agave wightii, Nicotiana, Citrus, Jatropha,* confermando anche la presenza di stirpi eterotalliche ed omotalliche.

La *Phyt. palmivora* è specie cosmopolita ed omnivora. Essa attacca cocco, albero della gomma, borasso, artocarpo, papaja, cotone, pomodoro, peperone, melanzana, arancio, giglio, ananasso, orchidee varie, eucalipto, ecc., per non ricordare che i casi più importanti.

La specie è stata segnalata su *Kentia* dal Labrousse (1) (su una coltivazione in serra, a Versailles). Egli incontrò grandi difficoltà nell'isolare la specie ed ottenne, accoppiando colture ottenute da *Hevea,* con quelle ottenute da isolati della *Kentia,* gli organi di riproduzione sessuale. Da questo dedusse che la specie appartiene al gruppo del « Cacao », per quanto egli ammetta che esistono ceppi dei due gruppi che non si accoppiano. Infatti oggi la distinzione dei due gruppi è basata sull'appartenenza al gruppo (+) ed al gruppo (—). Il Labrousse ritenne che la malattia fosse già presente sui semi e che per lo sviluppo lento del fungo, date le condizioni ambientali non favorevoli, il male aveva proceduto lentamente, rendendosi palese solo col tempo. A differenza di quanto notato sulle *Howea,* nel caso del Labrousse si trattava di un tipico « bud-rot » restando, nella maggioranza dei casi, integre le foglie esterne quando il « cuore » era già compromesso. Tale aspetto è stato osservato solo in una pianta, su sette infette, e nel corrente anno si è avuto occasione di riscontrare la malattia in un altro giardino di Portici, ed anche in questo caso solo una pianta su quattro presentava le caratteristiche descritte dal Labrousse. Del resto lo stesso Tucker (34) distinse due aspetti del « bud-rot », aspetti perfettamente corrispondenti a quelli citati.

Nei casi riportati nella presente nota non pare possibile che l'infezione iniziale debba ricercarsi nei semi. Infatti, anche a prescindere dalle età delle piante, variante tra i 9 ed i 25 anni, sembra molto difficile che il male abbia covato per tanti anni in un ambiente favorevole quale è quello di Portici. Sembrava, invece, probabile che l'infezione avesse avuto origine da frutti di arancio colpiti dal fungo. A dare verosimiglianza a tale ipotesi era il fatto che ogni anno si verifica una sensibile cascola di frutti « allupati » nei giardini, dove le piante sono tenute. Tuttavia le ricerche condotte in tal senso non hanno dato conferma all'ipotesi. Infatti, dopo accurate ricerche si è constatato che la cascola è dovuta a *Phyt. syringae.* Inoltre tutte le inoculazioni effettuate su frutti di arancio, limone e mandarino hanno avuto esito negativo.

Pertanto si ritiene più probabile che l'infezione sia avvenuta in uno dei periodici trapianti che le *Howea* subiscono per cambiare il terreno od i vasi. Nei trapianti si vuole adoperare terra d'orto, mista a terriccio di bosco di quercia. Non mancano, poi, esempi della esistenza, in Italia, di ceppi omotallici ed eterotallici di *Phyt. palmivora* (8, 21, 22, 24, 28).

Per impedire il propagarsi del male è stato suggerito quanto segue:

1) metter le piante in migliori condizioni di areazione e di luce;

2) ripulire le piante di tutte le parti secche ed alterate;

3) irrorare lo stipite e le guaine con poltiglia bordolese all' 1 %;

4) innaffiare il terreno dei vasi con soluzioni diluitissime di solfato di rame (1/5000);

5) usare terreno e vasi sterilizzati, eliminando il cessino come concime;

6) adoperare acqua d'irrigazione non inquinata usando di tanto in tanto soluzioni diluite di solfato di rame;

7) combattere le cocciniglie che per mezzo delle loro secrezioni attirano le formiche le quali, passando da piante infette a piante sane, potrebbero diventare vettrici della malattia.

RIASSUNTO

Si descrive il marciume della corona fogliare di una palma ornamentale, *Howea forsteriana*. La malattia, che solo per qualche carattere differisce dal « marciume del cuore » delle palme, è causata da una *Phytophthora* della quale si descrivono i caratteri morfologici, colturali e biologici. La specie fungina è individuata come ceppo eterotallico della *Phyt. palmivora* (Butl.) Leon., seguendo il concetto e la tecnica del Leonian.

Si indica come combattere la malattia, che si è dimostrata molto dannosa per alcune colture di *Howea*.

SUMMARY

A BUD-ROT OF *HOWEA FORSTERIANA*

by Renato Verneau

A bud-rot on *Howea forsteriana* is described. The agent is identified, by its morphological, cultural and biological characters, as *Phytophthora palmivora* (Butl.) Leon. according to systematics of the genus suggested by Leonian.

A method of control against this very dangerous disease is reported.

BIBLIOGRAFIA

(1) Ashby, F. S. Strains and taxonomy of *Phytophthora palmivora* Butl. (*P. faberi* Maubl.). *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 1929, 14, 18-38.

(2) Ashby, F. S. Further note on the production of sexual organs in paired cultures of species and strains of *Phytophthora. Trans Brit. Mycol. Soc.*, 1929, 14, 254-260.

(3) Butler, E. J. Disease of plants. *Agr. Res Inst. Pusa. Sci. Rept. 1919-20*, pp. 59-65. (Riass. in *R. A. M.*, 1925, 4, p. 414).

(4) Butler, E. J. Bud rot of coconut and other palms. *Rept. Imp. Bot. Conf. London*, 1924, pp. 145-147. (Riass. in *R. A. M.*, 1925, 4, p. 414).

(5) Coleman, L. Diseases of the areca palm. *Annales Mycologici*, 1910, 8, p. 581 e seg.

(6) Fawcett, H. S. Citrus diseases. London, 1936, p. 170 e seg.

(7) Gadd, C. H. The relationship between the *Phytophthora* associated with the bud-rot of palms. *Ann. Bot.*, 41, pp. 253-289.

(8) Goidànich, G. La *Phytophthora parasitica* Dastur sul pomodoro. *Boll. Staz. Pat. Veg.*, Roma, 1936, p. 115 e seg.

(9) Hernandez, M. S., in *Cacao Inf. Bull.*, 1949. (Riass. in *R. A. M.*, 1949, 28, p. 565).

(10) Labrousse, R. La pourriture des palmiers en France. *Rev. de Path. vég. et Ent. agric.*, 1931, XVIII, p. 13-23.

(11) Leonian, L. H. Physiological studies on the genus *Phytophthora. Ann. Jour. Bot.*, 1925, 12: 444-498.

(12) Leonian, L. H. The effect of different hosts upon the sporangia of some *Phytophthora. Phytopath.*, 1927, 17, 483-490.

(13) Leonian, L. H. The morphology and pathogenicity of some *Phytophthora* mutations. *Phytopath.*, 1926, 16, 723-730.

(14) Leonian, L. H., and Geer, H. L. Comparative value of the size *Phytophthora* sporangia obtained under standard conditions. *Jour. Agr. Res.*, 1929, 39, 293-331.

(15) Leonian, L. H. Studies on the variability and dissociations in the genus *Fusarium. Phytopath.*, 1929, 19, 753 e seg.

(16) Leonian, L. H. Differential growth under the action of malachite green. *Jour. Amer. Bot.*, 1931, 17, 935-941.

(17) Leonian, L. H. Heterothallism in *Phytophthora. Phytopath.*, 1931, 21, 945 e seg.

(18) Leonian, L. H. Identifications of *Phytophthora* sp. *Agric. Exp. State College of Agricult. W. Virginia Univers., Bull. 262*, Morgantown, 1934.

(19) Marudarian, D. Observations of the production in paired cultures of *Phytophthora* sp. of the *palmivora* group. *Proc. Ind. Acad. Sci., Sect. B*, 1941, XIV, 4, 384-389. (Riass. in *R. A. M.*, 1942, p. 165).

(20) Narasimhan, M. J. Studies on the genus *Phytophthora* in Mysore. Heterotallic strains. *Phytopath.*, 1930, XX, 201-214.

(21) Petri, L. I metodi di cura del marciume radicale degli agrumi. *Boll. Staz. Pat. veg. Roma*, 1929, IX, 255-272.

(22) Petri, L., in Ferraris, T. Parassiti vegetali delle piante coltivate. Milano, 1938, vol. I, p. 216.

(23) Petri, L. Formazione degli organi di riproduzione sessuale nella *Phytophthora cambivora* in cultura pura. *Boll. Staz. Pat. veg. Roma*, 1930, X, n. s., 361-365.

(24) Peyronel, B. Un interessante parassita del lupino non ancora segnalato in Italia: *Blepharospora terrestris* Sherb. *Rend. Acc. Lincei*, Cl. Sc., 1920, V, XXIX, 194-197.

(25) Rawlings, T. E. Phytopathological methods. London, 1933.

(26) Reinkin., O. A. Comparative studies of the *Phytophthora faberi* Maub. on coconut and cacao in the Philippine Islands. *Jour. Agr. Res.*, 1923, 25, 267-284.

(26) Reinking, O. A. Report of cocoa conference. London, 1948. (Riass. in *R. A. M.*, 1949, XXVIII, 276-277).

(27) Rosenbaum, J. Studies on the genus *Phytophthora*. *Journ. Agr. Res.*, 1917, 8, 233-276.

(28) Savastano, G. Ricerche sperimentali sul marcio del frutto degli agrumi. *Boll. Staz. Pat. veg. Roma*, 1932, 306-342.

(30) Shaw, F. J. F. Report of the Imperial Mycologist. *Rep. Agr. Inst. Pusa 1913-1914*, 14: 48-61.

(31) Sideris, C. T. Taxonomic studies in the family *Pythiaceae*. II. *Phytophthora*. *Mycologia*, 1932, 24: 14-61.

(32) Seal, J. L. Coconut bud-rot in Florida. *Flo. Agr. Exp. Stat. Bull. 199*, 1928.

(33) Thomas, K. M., Ramakrishan, T. S., and Balakrishan, M. S. Studies on the genus *Phytophthora*: I Oospora formation and taxonomy of *P. palmivora*. *Proc. Ind. Ac. Sci., Sect. B.*, 1947, XXVI, 147-163. (Riass. in *R. A. M.*, 1948, p. 159).

(34) Tucker, C. M. Controlling bud-rot. *Agr. Notes Porto Rico Exp. Stat.*, Mayaguez, 1924, 8. (Riassunto in *R. A. M.*, 1924, 4, 161).

(35) Tucker, C. M. *Phytophthora* bud-rot in Porto Rico. *Jour. Agr. Res.*, 1926, 32: 471-438.

(36) Tucker, C. M. The taxonomy of the genus *Phytophthora*. University of Missouri, 1730.

(37) Wilson, G. W. Studies in North America Peronosporales. *Mycologia*, 1914, 6, 54-83.

Ricevuto il 24 giugno 1952.

OSSERVATORIO DI FITOPATOLOGIA PER LA CAMPANIA
SEZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Michele Cristinzio)
PORTICI

RENATO VERNEAU

STERILIZZAZIONE PARZIALE DELLE DOGHE DI CASTAGNO DA ESPORTAZIONE

La più grave malattia del castagno è indubbiamente il « cancro della corteccia » (*Endothia parasitica*). Segnalato in Italia per la prima volta in Liguria, esso si è rapidamente diffuso anche nella Campania, provocando danni gravissimi sia nei castagneti da frutto che nei cedui castanili.

L'esportazione di legno di castagno per la costruzione di botti, anche verso Paesi che posseggono notevoli risorse boschive di quest'essenza, è stata sempre molto attiva dalle nostre regioni, e ciò per la particolare bontà della fibra del castagno italiano. Per il dilagare della malattia la Grecia, tradizionale importatrice di doghe di legno del nostro castagno, accetta la produzione italiana solo alla condizione che le partite vengano sottoposte a un trattamento di sterilizzazione a vapor caldo, o a secco, che escluda la sopravvivenza del parassita del « cancro ».

Tale fatto ha posto gli esportatori italiani di fronte a difficoltà non indifferenti, se si tien conto che si tratta di masse notevoli. Si è quindi presentato all'Osservatorio di Fitopatologia per la Campania, regione che è stata sempre forte esportatrice di doghe, un problema di ordine tecnico-economico che doveva trovare la sua soluzione nel campo strettamente pratico. Infatti agli Osservatori fitopatologici regionali sono devoluti sia il rilascio dei certificati sia il controllo della disinfezione.

Scartati quindi, perchè non accetti al Paese importatore, i sistemi di sterilizzazione chimica, indubbiamente meno costosi e di più facile applicazione, si è preferita l'azione del calore umido, perchè ritenuta più efficace agli effetti della devitalizzazione dell'*E. parasitica*. Si fa presente che non è possibile usufruire degli impianti usati per la disinfezione delle castagne o delle attrezzature delle ferrovie statali per la sterilizzazione e l'impregnazione delle traversine che sostengono le rotaie, in quanto l'alto costo del trasporto dai depositi agli impianti e da questi ai porti d'imbarco renderebbe antieconomica la sterilizzazione.

Si è cercato, innanzi tutto, di stabilire la profondità alla quale era possibile rinvenire il micelio del parassita nei tessuti legnosi, per quanto tale elemento risulti già noto (Shear, Boyle, ecc.). A tale scopo si sono ottenute al microtomo sezioni microscopiche di parti di tronchi infetti e prelevate, sia nel punto più vecchio dell'infezione che nei punti marginali. Le sezioni sono state poi colorate col metodo di Cart-Wright (safranina e picro-blu di anilina), e col metodo di Dickson modificato (rosso magdala e verde brillante). Il micelio del fungo è presente nei tessuti parenchimatici corticali, nel periciclo meccanico, nel libro e nel cambio. Lo si è rinvenuto quasi sempre nel legno di un anno, meno spesso in quello di due e solo di rado nel legno del terzo anno. Questo indipendentemente dall'età della pianta dalla quale era stato ottenuto il tronchetto.

Inoltre a scopo orientativo — anche se elementi ben precisi risultino dalle esperienze di Heald, Gardner e Studhalter — si è cercato di stabilire la resistenza delle ascospore e delle picnospore agli agenti atmosferici, nonchè la durata della loro vitalità.

Le prove effettuate in Laboratorio con fruttificazioni prelevate da tronchetti infetti da poco tempo, e seminando le spore in epoche successive, concordano, salvo trascurabili variazioni, con quelle effettuate da altri ricercatori.

Non altrettanto si può dire delle spore e picnospore prelevate direttamente da materiale infetto, che aveva avuto un periodo di esposizione varia agli agenti atmosferici, o nei punti, dove le piante erano state abbattute, od in cataste di deposito all'aperto. Ci si è serviti di materiale che sicuramente era stato esposto per 4, 8, 12, 18 mesi.

Le picnospore sono state trovate attive molto spesso dopo 12 mesi; le ascospore dopo 8 mesi. Tale constatazione trova la sua giustificazione nel fatto che il fungo continua la sua attività, sia pure con carattere saprofitario, perchè profitta delle sostanze ancora disponibili della matrice. Tale fatto, invece, non avviene quando le fruttificazioni sono prelevate dai tessuti. Infatti Heald ebbe modo di controllare che lo stesso stroma produceva spore sulla matrice in due successive stagioni.

In conclusione, la vitalità delle spore e delle picnospore è limitata a tre mesi e mezzo al massimo, se si tratta di fruttificazioni isolate, ma per quelle presenti sulla matrice essa è di gran lunga più elevata. Naturalmente non si tratta di effettiva vitalità della spora, ma di capacità da parte dell'organo fruttifero a produrre in continuazione spore la cui vitalità è sempre limitata nel tempo.

Occorre rilevare che le doghe vengono ricavate da tronchetti scortecciati e squadrati. Questo indubbiamente limita la possibile presenza di parti infette solo sugli spigoli di alcune delle doghe ottenute. Quindi,

all'atto pratico, la possibilità che esistano materiali infetti è notevolmente limitata sia da fattori biologici che dalla lavorazione meccanica.

Per le prove di sterilizzazione parziale delle doghe si è usufruito di una camera costituita da un cilindro di robusta lamiera provvisto di due portelli avvitabili con chiavarde che ne assicuravano la buona chiusura anche a mezzo di guarnizioni di amianto; sulla parte superiore del cilindro sono applicati un manometro, una valvola di sicurezza e l'inserzione di un tubo che adduce vapore ottenuto da un generatore mantenuto a 4-5 atmosfere.

Nella parte inferiore del cilindro è sistemato un tubo di scarico regolabile per mezzo di un rubinetto. Tale attrezzatura era stata costruita da una ditta esportatrice.

Da tronchetti di castagno infetti si ricavarono delle tavolette di legno, che differivano dalle tipiche doghe solo per il fatto che non erano state private della corteccia. Con gli opportuni accorgimenti del caso si prelevarono da queste « doghe » frammenti di corteccia, sia da punti completamente invasi che da punti di transizione tra la parte sana e quella infetta. Si prelevarono anche frammenti di legno, a diverse profondità e sempre in corrispondenza di punti attaccati. I frammenti furono seminati in capsule di Czapek agarizzato. Si procedette anche alla semina di ascospore e picnospore prelevate dalle fruttificazioni esistenti sulla corteccia. Le doghe infette, dalle quali si era effettuato il prelevamento, furono disposte, con le altre doghe comuni, nella camera di sterilizzazione e a diverse altezze. Poichè le doghe disposte in basso avrebbero subìto meno l'azione del calore, si lasciò una camera d'aria tra la massa delle doghe ed il fondo della camera, disponendo delle doghe in senso inverso e poggianti sulle pareti della camera stessa.

Chiusi i portelli e tenendo aperta la camera di scarico, si immise il vapore prodotto dal generatore. Dopo 15 minuti (preriscaldamento) si chiuse la valvola di scarico continuando l'immissione di vapore. In tal modo si era ottenuto un sensibile riscaldamento della massa e l'emissione dell'aria e dell'acqua che si era formata per la condensazione del vapore a contatto della massa fredda.

La prima prova fu effettuata continuando ad immettere vapore per 10 minuti dopo il preriscaldamento. Successivamente, bloccata la chiave di adduzione, si aprì la valvola di scarico e si procedette all'estrazione delle doghe. Le doghe infette furono segate per metà nel senso della lunghezza ottenendone, quindi, due tavolette di lunghezza ed altezza uguale alla doga originale, ma di metà spessore. Questo allo scopo di ottenere frammenti di tessuti ricavati da punti, dove l'azione del vapore si presumeva meno efficace. Dalla parte interna delle tavolette così ottenute

furono prelevati e seminati frammenti di corteccia e di legno, e dalle fruttificazioni del fungo furono prelevate e seminate ascospore e picnospore. Le piastre furono mantenute in termostato per tre o quattro giorni.

Tale prova fu ripetuta prolungando sempre più il periodo di « sterilizzazione ». Ossia dopo 15′ di preriscaldamento si immise vapore per la durata di 20′ per la seconda prova, di 25′ per la terza e di 30′ per la quarta. Si regolò l'immissione del vapore tenendo presente la pressione raggiunta nella camera in modo da mantenersi nei limiti di taratura della stessa. In tutte le prove si partì da una pressione del generatore di 4-5 atm e per ogni prova furono ripetute le semine in piastra prima e dopo.

Dopo tre o quattro giorni si provvide al trasferimento delle colonie fungine sviluppatesi nelle piastre, in tubi di Czapek agarizzato, qualunque fosse la colonia ottenuta. Ciò allo scopo di evitare che muffe banali mascherassero la presenza dell'*Endothia* all'esame macroscopico delle culture. I tubi furono mantenuti in termostato a 22° C fino a che non si ritenne opportuno procedere all'esame microscopico. Nella tabella che segue si riportano parzialmente, per brevità, i dati ottenuti.

Durata dell'azione del vapore

Posizione della doga infetta nella camera di sterilizzaz.	Frammento di	10′		20′		25′		30′	
		prima	dopo	prima	dopo	prima	dopo	prima	dopo
bassa	corteccia	+++	+++	+++	++−	+++	−−−	+−+	−−
media	»	+−+	+++	+++	+−+	++−	−−−	+++	−−−
alta	»	+++	++−	+++	+−−	+++	−−−	+−+	−−−
bassa	legno *	++	+−+	+++	−−+	++−	−−−	+−−	−−−
media	»	+−−	+−+	++−	−−+	+++	−−−	++−	−−−
alta	»	+++	−−+	+−−	+−−	−+−	−−−	+−	−−−
bassa	legno **	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−	−−−		
media	»	−−−	−−−	−−−	−−−				
alta	»	−−−	−−−	−−−	−−−				
media	ascospore	+−+	+++	+++	−−+	++−	−−−	++−	−−−
bassa	ascospore	−++	+−−	+++	−−−	++−	−−−	+−−	−−−
media	picnospore	+++	+−−	+++	−−−	+++	−−−	+−+	−−−
bassa	»	+++	−−−	++−	−−−	+−+	−−−	−++	−−−

* Indica l'ultimo, il penultimo od il terzultimo anello legnoso.
** Indica anelli legnosi più vecchi.
Il segno + indica lo sviluppo di una colonia di *Endothia*.

Le semine dei frammenti di legno confermano quanto è stato rilevato all'osservazione microscopica dei tessuti, e cioè che, in genere, per quanto riguarda il legno, solo gli anelli legnosi più giovani possono essere invasi dal parassita.

Le picnospore sono dotate di scarsa resistenza all'azione del calore umido e già dopo 10′ la quasi totalità di esse è uccisa. Questo fatto assume notevole importanza se si considera che la più probabile trasmissione dell'infezione può essere data dalle picnospore liberatesi durante le operazioni di scortecciatura e depositatesi poi sulle doghe stesse. Maggiore resistenza presentano le ascospore, come era da attendersi, ma la percentuale di fruttificazioni ascofore nel nostro clima è inferiore a quella delle fruttificazioni picnidiche.

Le prove con durata di sterilizzazione di 25′ hanno dato tutte risultato favorevole alla devitalizzazione del fungo e pertanto, nella pratica, occorre immettere vapore per una durata di 25′ oltre il periodo di preriscaldamento, almeno per camere che abbiano la capacità di 2-3 m^3 e con generatore di vapore ad almeno a 4-5 atmosfere.

All'apertura dei portelli le doghe devono essere estratte quando la massa si è sufficientemente raffreddata e bisogna depositarle in luogo lontano dall'ubicazione dell'apparecchio. Le doghe si sbianchiscono per lo scarico di sostanze tanniche che passano nell'acqua emessa durante il periodo di preriscaldamento ed in quella che si deposita sul fondo del recipiente. Nessuna alterazione viene provocata nel legno dal trattamento, come è stato dimostrato dalla costruzione di una botte con legno trattato.

Altro sistema che potrebbe avere pratica applicazione è quello che si ottiene usando le « cloches » a vapore adoperate per il « rammollimento » del legno nelle fabbriche di botti. L'apparecchio è costituito da una campana di robusta lamiera che si adatta ad una guida metallica fissa al suolo. Al centro della circonferenza formata dalla guida è disposto l'orificio di un tubo in relazione ad un generatore di vapore. Intorno al tubo, e nella detta circonferenza, si dispongono opportunamente le doghe e su di esse si lascia scendere la campana metallica sino a che si adatti esattamente alla guida. La campana si alza e si abbassa per mezzo di contrappesi. Le prove eseguite hanno dato risultato non sensibilmente diverso da quello precedentemente descritto; è però necessario aumentare di 10′ la durata dell'operazione, nonostante la minore mole della massa da trattare, e ciò per il maggiore raffreddamento che subiscono le campane e per la perdita di vapore che si ha per la mancata chiusura ermetica.

Indubbiamente i descritti sistemi di sterilizzazione parziale importano una maggiorazione del costo delle operazioni inerenti all'esportazione, non tanto per il costo valutato a 250-300 lire per carrata, quanto per l'im-

piego della mano d'opera per trasporto. Il primo sistema ha sul secondo il vantaggio di essere costituito da una attrezzatura trasportabile e di essere più rapido. Tuttavia il procedimento è lento ed occorre predisporre l'operazione per tempo, curando che le partite trattate vengano disposte opportunamente onde evitare eventuali inquinamenti.

Grazie alle prove condotte ed alle indicazioni fornite dall'Osservatorio di Fitopatologia, è stato possibile procedere, da parte di ditte interessate, alla costruzione di attrezzature che alla maggior capacità unissero la possibilità di ottenere, con lievi variazioni, anche l'essiccamento artificiale del legno. In tal modo, sfruttando le attrezzature per due scopi diversi, si evita che il costo sensibile degli impianti graviti solo sulla operazione di sterilizzazione parziale.

Una di tali attrezzature, installata a Salerno, è costituita da una camera metallica di circa 15 m^3 di capacità lorda, rivestita di materiale coibente e riscaldata con resistenze elettriche. La circolazione dell'aria e la regolazione della umidità ambiente si hanno per mezzo di particolari dispositivi. Il riscaldamento può anche essere ottenuto per mezzo di un generatore di vapore, applicabile con lieve modifica. In tal modo è possibile la sterilizzazione parziale a secco od a vapore, e si può anche ottenere l'essiccamento artificiale del legno con gli accorgimenti del caso.

Dalle prove effettuate con la stessa tecnica descritta, risulta che la devitalizzazione dell'*Endothia* si ha dopo un'ora ad 85° C, ma è necessario attendere da una a due ore per portare la massa a tale temperatura. Infatti il riscaldamento è in relazione alla intensità di corrente che varia a seconda delle ore in cui viene effettuata la sterilizzazione. Le prove furono condotte solo con riscaldamento elettrico.

Una seconda attrezzatura, entrata recentemente in funzione a Castellammare di Stabia, è molto simile alla precedente. In una delle pareti della camera sono sistemate delle serpentine in collegamento con due caldaie a bassa pressione. L'aria presente è costretta a passare su dette serpentine ed è messa in circolazione da ventilatori opportunamente sistemati. Da una conduttura, sita nella parte bassa della camera, viene immesso, in questa, vapor d'acqua, in modo da ottenere un grado di umidità regolabile facilmente per mezzo di un ingegnoso dispositivo. Le doghe sono sistemate su due carrelli che scorrono su binari disposti nella camera. Nel mentre vengono trattate le doghe già introdotte si provvede al carico di altri due carrelli, in modo che, non appena la prima operazione è terminata, per mezzo di uno scambio è possibile ricaricare in pochissimi minuti la camera senza che questa subisca un notevole raffreddamento.

Le prove di controllo condotte hanno indicato che dopo una permanenza di 30' a 75° C si ha la morte del fungo. Per raggiungere la tempe-

ratura utile occorre circa 1 ora per il primo carico e circa tre quarti d'ora per i carichi successivi.

Anche tale attrezzatura permette la essiccazione artificiale del legno con lievi modifiche.

Tali impianti consentono una lavorazione a carattere industriale e, in certi limiti, anche abbastanza economica, in quanto è possibile usare per altri scopi l'attrezzatura quando non occorra sterilizzare parzialmente il legno di castagno.

RIASSUNTO

Si espongono i risultati delle prove orientative e di controllo effettuate per ottenere la devitalizzazione dell'*Endothia parasitica* Sh. eventualmente presente su doghe di castagno da esportare in Grecia, per mezzo della sterilizzazione parziale.

Le prove eseguite hanno dimostrato che una temperatura di 75° C, in ambiente umido, mantenuta per almeno 30' od una temperatura di 85° C per 1 h., in ambiente secco, provocano la morte del micelio e degli organi di riproduzione del fungo.

SUMMARY

PARTIAL STERILIZATION OF CHESTNUT STAVES FOR EXPORT

by Renato Verneau

Some experiments made on chestnut staves affected by *Endothia parasitica*, for the purpose of studying devitalization of the fungus, are described.

The experiments carried on demonstrate that a temperature of 75° C, maintained for 30' in a very moist atmosphere, or a temperature of 85° C in a dry atmosphere for 1 h., are able to kill the fungus.

Ricevuto il 24 giugno 1952.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Enrico Romano e Giorgio Giulimondi

CONTRIBUTO ALLO STUDIO DELLA STABILITÀ CHIMICA DELLA MISCELA DACHICIDA BERLESE

Premessa

Per quanto ci risulta dalla letteratura che abbiamo potuto consultare, la miscela dachicida Berlese, largamente sperimentata per la sua proprietà di attirare ed avvelenare per ingestione la mosca delle olive (*Dacus oleae*), non è stata sufficientemente studiata nelle sue caratteristiche chimiche, soprattutto nell'eventuale variazione dal momento in cui essa viene diluita e posta nelle bacinelle perchè compia la sua funzione. È noto soltanto che la leggera alcalinità iniziale, dovuta all'idrolisi dell'arseniato od arsenito alcalino, diminuisce successivamente finchè interviene una leggera acidità, presumibilmente dovuta alla fermentazione degli idrati di carbonio contenuti nella miscela stessa.

Per quanto tempo la miscela si mantiene leggermente alcalina e quindi per quanto tempo le sue proprietà insetticide restano inalterate?

Per rispondere a questa domanda ed anche con la speranza di portare un piccolo contributo alla lotta per la difesa dell'olivo dal *Dacus oleae*, abbiamo istituito delle prove di laboratorio che ripetessero il più fedelmente possibile quanto realmente si fa in pratica nella lotta per mezzo delle bacinelle.

Sulla miscela (gentilmente fornitaci dalla Società Berlese) che, com'è noto, viene diluita nel rapporto 1 : 10 con acqua di fonte, abbiamo determinato, in funzione del tempo, la reazione, l'alcalinità o l'acidità, il saccarosio e gli zuccheri riduttori.

Tuttavia, trattandosi di una soluzione zuccherina diluita (circa 4 % in saccarosio), abbiamo pensato di effettuare, parallelamente alla prova con miscela normale, che così assumeva il valore di testimone e di termine di confronto, delle prove nelle quali alla miscela diluita fossero state aggiunte delle sostanze antifermentative analogamente a quanto si fa per conservare, ad esempio, il vino dolce e di bassa gradazione alcoolica e per

impedire l'intervento della fermentazione acetica. Tali sostanze avrebbero potuto conservare per un tempo maggiore la reazione leggermente alcalina iniziale.

Le sostanze antifermentative usate, alla concentrazione di 0,1 % della miscela diluita, sono state le seguenti:

1) estere metilico dell'acido paraossibenzoico (Nipagina M, della ditta Zilliken di Genova);

2) estere propilico normale dell'acido paraossibenzoico (Nipasol S, della ditta Zilliken di Genova);

3) benzoato di sodio;

4) fluoruro di sodio.

L'impiego di tali sostanze ha una ragione essenzialmente sperimentale, mentre non ci siamo affatto preoccupati della sua convenienza economica. Tale aspetto non riguarda la presente nota.

Parte sperimentale

Il dachicida Berlese è stato diluito in acqua di fonte nel rapporto in peso di 1 : 10. Sono state preparate 5 soluzioni, e precisamente una normale da servire come testimone ed altre quattro con gli antifermentativi indicati precedentemente.

Le soluzioni, nella quantità di circa 1,2 litri, sono state poste in beker di vetro coperti con vetro da orologio per diminuire l'evaporazione in quanto i beker stessi sono stati posti in termostato a 25° C, alla temperatura ottimale per lo sviluppo di qualsiasi fermentazione.

Per evitare che, a causa della evaporazione dell'acqua, i valori delle determinazioni effettuate variassero per conseguente concentrazione della soluzione, i beker, dopo essere stati riempiti e coperti e prima di essere posti in termostato, sono stati pesati. Ogni volta che si è proceduto all'esecuzione delle determinazioni stabilite, i beker sono stati riportati con acqua al peso precedente, il contenuto ben mescolato per omogeneizzare il tutto e quindi si è proceduto al prelevamento dei campioni per l'analisi. Dopo di che i beker sono stati di nuovo pesati e riposti in termostato: si aveva così il nuovo peso cui si doveva riportare il tutto con acqua prima del successivo prelevamento. I prelevamenti sono stati fatti a volume ed intervallati da un numero variabile di giorni. Ogni giorno i beker sono stati esposti all'aria libera per 2, 3 ore in modo che potessero bene infettarsi di spore o germi. In tale periodo peraltro avevano modo di raffreddarsi. Nei giorni in cui si effettuava il prelevamento, che come si è detto veniva effettuato a volume, si attendeva preventivamente il raffreddamento.

Le determinazioni effettuate sono state le seguenti:

a) reazione: con cartina Merk sensibile al 0,5 unità di pH data l'impossibilità di applicare il metodo colorimetrico a causa della colorazione della soluzione;

b) alcalinità o acidità su 10 cc di miscela diluiti fino a 100 cc con acqua distillata, impiegando acido od alcali 0,1 N e servendosi del saggio alla tocca con cartina azzurra o rossa di tornasole;

c) zuccheri riduttori e saccarosio, dopo inversione, con il metodo volumetrico di Fehling.

I risultati delle determinazioni effettuate sono raccolti in tabelle numerate da I a V. In ogni tabella, oltre ai valori della reazione, dell'alcalinità, dell'acidità e degli zuccheri riduttori, figura il contenuto in saccarosio; nell'ultima colonna della tabella sono poi riportati i valori del contenuto in zuccheri totali della miscela, ottenuti sommando il saccarosio più gli zuccheri riduttori trasformati in saccarosio per mezzo del fattore 0,95. Tali valori sono stati ritenuti utili in quanto la loro consultazione rende ragione di un avvenuto consumo o trasformazione degli zuccheri totali presenti.

I controlli analitici non sono stati effettuati ad eguale intervallo di giorni, in quanto inizialmente abbiamo avuto la sensazione di una certa inerzia chimica e gli intervalli venivano stabiliti in base ai valori ottenuti nelle determinazioni; tuttavia le tabelle danno ugualmente una fedele traccia di ciò che è avvenuto.

Tabella I

Variazione della composizione della miscela dachicida Berlese senza aggiunta di antifermentativi in funzione del tempo

Data	Reazione in pH	Alcalinità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Acidità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Zuccheri riduttori %	Saccarosio %	Zuccheri totali espressi in saccarosio %
1–III	9,0	1,60		assenti	4,34	4,34
4–III	9,0	1,40		»	»	»
10–III	9,0	1,30		»	»	»
14–III	8,0	1,00		»	»	»
20–III	7,5	0,20		»	»	»
23–III	5,5		0,40	0,32	4,00	4,30
28–III	5,0		0,45	0,40	3,90	4,28
3–IV	5,0		0,55	0,42	3,90	4,29
11–IV	4,5		0,70	0,77	3,50	4,23
18–IV	4,0		0,70	0,88	3,37	4,20
29–IV	3,5		2,30	0,90	3,23	4,08
12–V	3,5		3,50	0,90	3,23	4,08

Tabella II

Variazione della composizione della miscela dachicida Berlese in presenza di 0,1% di Nipagina M in funzione del tempo

Data	Reazione in pH	Alcalinità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Acidità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Zuccheri riduttori %	Saccarosio %	Zuccheri totali espressi in saccarosio %
1–III	9,0	1,60		assenti	4,34	4,34
4–III	9,0	1,50		»	»	»
10–III	9,0	1,30		»	»	»
14–III	8,0	1,00		»	»	»
20–III	7,5	0,50		»	»	»
23–III	7,0	0,30		0,20	4,14	4,33
28–III	6,5	20,10		0,32	4,00	4,30
3–IV	6,5	—	—	0,57	3,77	4,31
11–IV	6,0		0,10	0,67	3,70	4,33
18–IV	6,0		0,20	0,93	3,40	4,28
29–IV	5,5		0,30	1,24	3,15	4,32
12–V	5,5		0,40	1,68	2,70	4,29

Tabella III

Variazione della composizione della miscela dachicida Berlese in presenza di 0,1% di Nipasolo S in funzione del tempo

Data	Reazione in pH	Alcalinità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Acidità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Zuccheri riduttori %	Saccarosio %	Zuccheri totali espressi in saccarosio %
1–III	9,0	1,60		assenti	4,34	4,34
4–III	9,0	1,50		»	»	»
10–III	9,0	1,30		»	»	»
14–III	8,0	1,00		»	»	»
20–III	8,0	0,80		»	»	»
23–III	8,0	0,70		tracce	»	»
28–III	8,0	0,70		»	»	»
3–IV	7,0	0,40		»	»	»
11–IV	7,0	0,40		»	»	»
18–IV	7,0	0,50		»	»	»
29–IV	8,0	0,80		»	»	»
12–V	8,0	0,90		»	»	»

TABELLA IV

Variazione della composizione della miscela dachicida Berlese in presenza di 0,1% di Benzoato sodico in funzione del tempo

Data	Reazione in pH	Alcalinità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Acidità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Zuccheri riduttori %	Saccarosio %	Zuccheri totali espressi in saccarosio %
1–III	9,0	1,60		assenti	4,34	4,34
4–III	9,0	1,60		»	»	»
10–III	8,0	1,30		»	»	»
14–III	8,0	1,00		»	»	»
20–III	6,5	—	—	»	»	»
23–III	5,0		0,50	0,36	4,00	»
28–III	5,0		0,50	0,40	3,90	4,28
3–IV	5,0		0,50	0,54	3,80	4,31
11–IV	4,5		0,90	0,60	3,70	4,27
18–IV	4,0		1,80	0,60	3,55	4,10
29–IV	3,0		4,80	0,54	3,43	3,94
12–V	3,5		4,00	0,50	3,39	3,90

TABELLA V

Variazione della composizione della miscela dachicida Berlese in presenza di 0,1% di Fluoruro sodico in funzione del tempo

Data	Reazione in pH	Alcalinità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Acidità in cc H_2SO_4 N/10 usati	Zuccheri riduttori %	Saccarosio %	Zuccheri totali espressi in saccarosio %
1–III	9,0	1,60		assenti	4,34	4,34
4–III	9,0	1,49		»	»	»
10–III	9,0	1,20		»	»	»
14–III	8,0	0,90		»	»	»
20–III	6,5	—	—	»	»	»
23–III	5,0		0,40	3,12	1,40	4,36
28–III	5,0		0,40	3,69	0,80	4,30
3–IV	5,0		0,50	4,17	0,35	4,31
11–IV	5,0		0,60	4,35	0,17	4,30
18–IV	5,0		0,60	4,40	0,10	4,28
29–IV	3,5		3,20	4,17	traccie	3,96
12–V	3,5		3,40	3,95	»	3,76

Considerazioni sui risultati ottenuti

La soluzione-testimone presenta inizialmente un'alcalinità che soltanto al 20° giorno diventa minima tanto che la reazione può essere considerata praticamente neutra. Oltre questo giorno la reazione diventa acida, l'acidità titolabile presente va aumentando e sono presenti gli zuccheri riduttori, mentre il saccarosio diminuisce. Gli zuccheri totali diminuiscono di poco con evidente trasformazione in acidi; comunque, la diminuzione degli zuccheri totali va messa in relazione con l'aumento dell'acidità titolabile.

L'azione del benzoato e del fluoruro sodico si è rilevata inesistente, anzi stiamo per dire negativa, in quanto in ambedue i casi, al 20° giorno, non si è più riscontrata dell'alcalinità titolabile. Peraltro, nel caso del secondo prodotto, appare marcata l'idrolisi del saccarosio che, a fine controllo, risulta assente. In ambedue i casi infine, la diminuzione degli zuccheri totali, maggiore che nel testimonio, va messa in relazione con l'aumento dell'acidità titolabile.

I derivati dell'acido paraossibenzoico hanno fatto migliore prova. Quello commercialmente denominato Nipagina M, ha determinato fino al 28° giorno la presenza di alcalinità titolabile oltre al quale giorno l'idrolisi del saccarosio diventa accentuata, mentre gli zuccheri totali diminuiscono minimamente, come pure minimamente aumenta l'acidità titolabile; la reazione, infine, rimane leggermente acida.

Quello poi denominato Nipasolo S ha fornito, come si può chiaramente rilevare dalla tabella III, il miglior risultato in quanto ha mantenuto per la durata del controllo, vale a dire per due mesi e mezzo, la reazione della soluzione sempre alcalina, tranne un leggero flesso verso la neutralità dal 3 al 18 aprile. Comunque è stata sempre presente l'alcalinità titolabile e come conseguenza non sono mai apparsi gli zuccheri riduttori ed il contenuto in saccarosio è rimasto costante.

In base ai risultati sopra riportati, quale risposta possiamo ora dare alla domanda fatta nella nostra premessa?

La miscela dachicida Berlese, posta nelle migliori condizioni di fermentazione, che sono poi le peggiori per una buona conservazione, si mantiene alcalina per almeno venti giorni dalla sua preparazione. Volendo prolungare tale periodo, si può ricorrere a degli antifermentativi. Non tutti però raggiungono lo scopo, chè anzi qualcuno lo frustra. Un derivato dell'acido paraossibenzoico, e precisamente l'estere propilico normale, è idoneo a mantenere alcalina la reazione della miscela per un tempo considerevole.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno studiato la stabilità chimica della miscela dachicida Berlese eseguendo, in funzione del tempo, misure della reazione, dell'alcalinità, dell'acidità, degli zuccheri riduttori e del saccarosio, tanto in una soluzione normale, considerata come testimonio, quanto in soluzioni cui erano stati aggiunti degli antifermentativi.

Per almeno venti giorni, la soluzione testimone resta alcalina; degli antifermentativi usati il benzoato ed il fluoruro di sodio hanno avuto effetto negativo, mentre dei due derivati dell'acido paraossibenzoico l'estere propilico normale ha mantenuto alcalina la soluzione ed inalterato il contenuto zuccherino per almeno 75 giorni, vale a dire finchè sono durate le prove.

Sulla scorta dei risultati ottenuti, all'entomologo viene offerta la possibilità di accertare sperimentalmente l'attività dachicida della miscela Berlese tale quale e quindi alterabile con il tempo, in confronto di quella resa stabile con aggiunta di antifermentativi (Nipasolo S). Una volta accertata la prevedibile maggiore azione antidacica della miscela stabilizzata, verrà esaminato il lato economico del problema.

SUMMARY

A CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE CHEMICAL STABILITY OF THE BERLESE MIXTURE FOR THE OLIVE FLY CONTROL

by Enrico Romano and Giorgio Giulimondi

The authors have studied the chemical stability of the Berlese mixture for the olive fly (*Dacus oleae*) control as a function of the time, the measure of the reaction, of the alkalinity, of the acidity, of the reducing sugars and of the saccharose, both in a normal solution considered as test and in solutions to which have been added anti-fermentative substances.

For at least 20 days, the test solution remained alkaline; of the anti-fermentatives used, the benzoate and the sodium fluorurate had negative

effect, while of the two paraoxybenzoic acid derivatives the normal propylic ester kept the solution alkaline and the sugar content unaltered for at least 75 days, that is, for the entire duration of the essays.

On the basis of the results obtained, the possibility is offered to the entomologist of finding out experimentally the activity against the olive fly of the Berlese mixture such as it is and alterable with time, in comparison with that stabilized by the addition of anti-fermentatives (Nipasolo S). Once the major predictable olive fly control action of the stabilized mixture is ascertained, the economic side of the problem will be examined.

Ricevuto il 26 giugno 1952.

LABORATORIO DI ZOOTECNIA
(Direttore: Renzo Giuliani)
FIRENZE

Angelo Meregalli

CONTRIBUTO ALLO STUDIO DI UN METODO PRATICO ED ECONOMICO DI ALLATTAMENTO DI VITELLE DI RAZZA LATTIFERA

La questione dell'allattamento razionale dei vitelli ha formato oggetto di numerose osservazioni e ricerche sperimentali che hanno permesso di elaborare nuovi metodi di allattamento i quali, mentre soddisfano dal punto di vista fisiologico, risultano più economici rispetto al metodo tradizionale. Vero è che il sistema di allattamento non può essere eguale per tutti i vitelli, ma deve variare in relazione alla razza ed alla destinazione dei vitelli stessi.

Come è noto, l'allattamento può essere naturale od artificiale, e cioè può essere fatto direttamente alla mammella oppure mediante poppatoio. In linea di principio, l'allattamento artificiale è preferibile a quello naturale per diverse ragioni, ma sopra tutto perchè permette di meglio regolare la razione di latte dei vitelli in rapporto alle loro esigenze e di procedere ad eventuali e graduali sostituzioni del latte intero con succedanei del latte. Tuttavia detto sistema di allattamento non può essere praticato nelle razze bovine da lavoro e carne ed in generale nelle razze in cui la produzione lattea è una semplice funzione fisiologica. In queste razze, infatti, le vacche non sono munte, ma sono fatte poppare dai vitelli limitatamente al periodo dell'allattamento. Non vi sarebbe la convenienza di mungerle, dato che la produzione di latte, in generale, è appena sufficiente al vitello; ma anche se si volesse mungerle si andrebbe incontro a serie difficoltà per il fatto che in queste vacche la cessione del latte avviene soltanto quando il vitello succhia la mammella o quanto meno quando la vacca è in presenza del vitello stesso.

Nelle razze da lavoro e da carne, quindi, non esiste il problema dell'allattamento artificiale dei vitelli. Se mai esiste il problema dell'integrazione dell'allattamento materno quando la produzione lattea delle vacche risulti insufficiente per il buono sviluppo dei rispettivi vitelli. Questo fatto si verifica con una certa frequenza nelle razze « Romagnola », « Chia-

nina » e « Marchigiana », limitatamente a vitelli maschi destinati a diventare torelli. In queste razze, infatti, non è infrequente il caso di vitelli dotati di grande capacità di sviluppo nei quali il fattore limitante lo sviluppo stesso è rappresentato dall'insufficiente produzione lattea delle rispettive madri. In questi casi l'integrazione del latte materno con succedanei del latte permette di ottenere un maggiore e più rapido sviluppo dei futuri torelli.

Nelle razze bovine da latte, ed in quelle a triplice attitudine in cui la produzione lattea è più o meno sviluppata, l'allattamento artificiale è senz'altro da raccomandare, sia che si intenda fare l'allattamento esclusivamente con latte intero sia, ed a maggior ragione, che si intenda praticare la parziale sostituzione del latte intero con succedanei del latte. Premesso che in queste razze l'allattamento artificiale è senz'altro da preferire a quello naturale sia nell'allevamento delle vitelle che in quello dei torelli, dobbiamo aggiungere che mentre nell'allattamento delle vitelle si può fare un crescente uso di succedanei del latte intero, già a partire dalla quarta settimana di vita, nell'allattamento dei vitelli destinati a diventare tori è bene prolungare l'allattamento con latte intero almeno fino ai tre mesi di età pur integrando il latte intero con modesti quantitativi di ottimo fieno e di concentrati.

A questo proposito riteniamo opportuno rilevare che se è da condannare il sistema, spesso adottato dai nostri piccoli allevatori di montagna, di un allattamento parsimonioso e ridotto dei vitelli destinati a diventare torelli, è anche da condannare il sistema, spesso adottato in Svizzera, di un allattamento esclusivo e molto prolungato con latte intero, in quanto con questo sistema si ottengono torelli che hanno il rumine, la cuffia ed il centopelli semiatrofizzati e quindi inadatti alla digestione dei foraggi, torelli, quindi, che andranno incontro ad una crisi di slattamento. Così, ad es., in Svizzera nell'allevamento di vitelli di media qualità si somministra una razione completa di latte intero fino all'età di 14-16 settimane, dopo di che si inizia il graduale svezzamento che termina a sei mesi: complessivamente, quindi, un vitello di questa classe consuma da 1000 a 1200 kg di latte. Ma quando si tratta di vitelli di gran classe si aumenta la quantità giornaliera di latte fino a 10-12 litri e si prolunga l'allattamento fino a far consumare complessivamente da 1800 a 2000 litri di latte (2)!

Nell'allevamento delle vitelle gli allevatori svizzeri di razza « Bruna » si attengono a queste norme:

a) nel primo giorno somministrazione di 3-4 litri di colostro, che si aumenta gradualmente finchè:

b) alla fine della prima settimana si raggiungono i 5-6 litri ed alla fine della seconda settimana i 6-7 litri;

c) alla fine della terza settimana si raggiungono gli 8 litri e questa quantità viene mantenuta costante fino alla 12ª-13ª settimana;

d) a partire da questa età si inizia la graduale riduzione del latte intero la cui somministrazione cessa praticamente all'età di 20-25 settimane;

e) nelle aziende che dispongono di latte scremato questo sostituisce il latte intero eventualmente integrato da una miscela di panello di lino, crusca di frumento ed avena schiacciata e da modesti quantitativi di ottimo fieno; nelle aziende in cui manca il latte scremato, lo svezzamento avviene soltanto con la graduale crescente somministrazione di detto concentrato e del fieno.

In media, nell'allevamento delle vitelle di razza « Bruna alpina », si somministrano da 800 a 900 litri di latte intero se si tratta di vitelle comuni e di 880-960 litri se si tratta di vitelle di pregio (2).

Il sistema di allattamento adottato dagli allevatori svizzeri di razza « Bruna alpina » non manca certo di razionalità dal punto di vista fisiologico, sebbene noi riteniamo che spesso si esageri nella somministrazione del latte intero ai torelli con l'inconveniente che abbiamo segnalato. Ma si tratta, indubbiamente, di un sistema molto costoso — tanto più costoso quanto più elevato è il prezzo industriale del latte — che, se può trovare la sua giustificazione quando si tratta di allevare torelli e vitelle di grande genealogia i cui prezzi di vendita copriranno *ad abundantiam* la maggior spesa di allattamento, non appare consigliabile quando si tratta di allevare vitelle comuni che debbono servire per la rimonta delle stalle. D'altra parte, dobbiamo rilevare che la maggior parte delle ricerche dirette a risolvere il problema dell'allattamento economico dei vitelli ha fatto riferimento alla possibilità di utilizzare il latte scremato. Anche recentemente, due noti sperimentatori italiani, i proff. Usuelli e Piana, si sono occupati di questo problema sperimentando con successo un sistema consistente nel sostituire al latte intero, già a partire dalla seconda settimana, il latte scremato reintegrato con adisole, un preparato a base di vitamina A e D.

Ma se si eccettua la pianura padana, in Italia difficilmente le aziende agrarie possono disporre di latte scremato e, d'altra parte, non va dimenticato che il latte scremato è un liquido di facile alterabilità per cui se non lo si impiega con le dovute norme di pulizia e di igiene può facilmente alterarsi e quindi dar luogo ai ben noti inconvenienti (diarrea) nei giovani vitelli cui viene somministrato.

Le nostre ricerche si sono, pertanto, orientate verso un succedaneo del latte che potesse essere impiegato specialmente per le vitelle di razza lattifera in graduale sostituzione del latte intero e senza impiego di latte

scremato. Per la verità, molti sperimentatori si sono occupati di questo problema e numerose sono le miscele che sono state studiate e sperimentate quali succedanei del latte intero nell'allattamento dei vitelli, e ciò a prescindere dalle varie farine lattee preparate dell'industria.

Ma l'impiego di queste farine lattee, in quanto presuppone la loro diluizione in acqua tiepida e somministrazione mediante poppatoio, nella pratica non va esente da inconvenienti dovuti non tanto alle farine in sè stesse quanto al fatto che il personale di stalla non sempre cura la pulizia dei poppatoi e la somministrazione del liquido allo stato fresco ed alla giusta temperatura. D'estate, poi, gli inconvenienti si accentuano per la facilità con cui si altera il liquido ottenuto stemperando la farina lattea in acqua.

Un altro non trascurabile inconveniente inerente a questo sistema è che le vitelle debbono necessariamente essere abituate al poppatoio mentre molti allevatori — specialmente i piccoli — male si adattano all'uso di questo.

Scopo delle esperienze e loro precedenti

Per tutte queste considerazioni ci siamo orientati verso un sistema di allattamento basato sulla somministrazione alle vitelle di una miscela asciutta atta, in certo qual modo, a sostituire il latte intero, lasciando libero il vitello di ingerire quella quantità di acqua di cui senta il bisogno volta per volta, abbinando alla somministrazione della miscela la somministrazione di piccole quantità di ottimo fieno in guisa da far entrare in funzione e far sviluppare il rumine, la cuffia ed il centopelli. Quest'ultimo obiettivo ci è sembrato tanto più utile in quanto si tratta di vitelle destinate a diventare vacche da latte, le quali dovranno poter ingerire e digerire grandi quantità di foraggi.

Sotto questo aspetto le nostre esperienze hanno costituito la continuazione delle esperienze eseguite nel 1942 in questo stesso Laboratorio dal mio predecessore, dott. Aldo Landi, secondo le direttive impartite dal direttore, prof. Renzo Giuliani, esperienze che dettero risultati molto incoraggianti (5).

Le esperienze del dott. Landi vennero eseguite su 5 vitelle meticce « Frisone » × « Brune alpine », di cui una tenuta come controllo ed allattata artificialmente con latte intero secondo il sistema tradizionale : razione crescente a base di colostro e poi di latte intero fino alla fine della nona settimana (circa 2 mesi), in cui la vitella ricevette 10 litri di latte al giorno, e poi graduale riduzione del latte intero e contemporaneo inizio della som-

ministrazione di fieno e di una miscela di concentrati per arrivare alla fine dello slattamento all'età di 140 giorni. Delle 4 vitelle dell'esperimento, 2 ricevettero dapprima il colostro e poi il latte intero nelle prime tre settimane fino a raggiungere la quantità giornaliera di 8 litri di latte; a partire dall'inizio della quarta settimana ricevettero quantità gradualmente decrescenti di latte intero e contemporaneamente piccole quantità di ottimo fieno di erba medica, di trifoglio, di prato stabile e piccole quantità di diversi mangimi messi in altrettanti scomparti (panello di lino, farina di granoturco giallo, crusca di frumento, avena sfarinata, farina d'orzo, polvere di latte scremato) allo scopo di controllare le preferenze per i vari fieni e mangimi da parte delle singole vitelle alle quali, naturalmente, venne messa a disposizione dell'acqua da bere. La somministrazione di latte intero cessò definitivamente alla 12ª settimana con un consumo complessivo di litri 341 (compreso il colostro) per ogni vitella.

Successivamente l'esperimento venne esteso ad altre 2 vitelle le quali, dopo aver ricevuto il colostro ed il latte intero per 3 settimane, ricevettero, a partire dalla quarta settimana, dosi decrescenti di latte e contemporaneamente buon fieno di prato naturale (in quanto risultò il preferito dalle 2 vitelle precedenti) ed una miscela costituita dai mangimi che le vitelle della precedente esperienza avevano dimostrato di preferire (panello di lino, farina di granoturco giallo, polvere di latte scremato, crusca di frumento e farina d'ossa sgelatinate). Anche in queste due vitelle la somministrazione di latte intero cessò definitivamente alla fine della 12ª settimana con un consumo complessivo (compreso il colostro) di kg 390.

Come risulta dalla relazione del dott. Landi, le 4 vitelle dall'esperimento, pur avendo iniziato lo slattamento a partire dalla quarta settimana e consumato una quantità media complessiva di colostro e latte intero di appena kg 365,5 di fronte ai kg 908 consumati dalla vitella di controllo, ebbero uno sviluppo ed un incremento medio giornaliero di peso pressochè eguali a quelli della vitella di controllo come risulta dalle cifre seguenti:

	Vitella di controllo	Vitelle di esperimento			
	n. 1 kg.	n. 2 kg.	n. 3 kg.	n. 4 kg.	n. 5 kg.
Peso vivo alla nascita	32	40	37	42	36
Peso vivo alla 12ª settimana . .	101	106	100	106	100
Peso vivo alla 18ª settimana . .	139	142	136	134	133
Aumento medio giorn. di peso . .	0,848	0,817	0,786	0,769	0,769

Come si vede, i risultati delle esperienze del dott. Landi furono veramente incoraggianti e le esperienze stesse furono meritevoli di essere riprese allo scopo di arrivare alla formulazione pratica del nuovo sistema di allattamento.

Nel frattempo esperienze analoghe vennero compiute in altri Paesi, specialmente negli Stati Uniti d'America, e riteniamo opportuno di farne cenno.

Nel 1943, presso la Stazione agraria sperimentale di Montana il Tretseven (8) ottenne lo svezzamento precoce di vitelle lattifere, a partire dalla fine della quarta settimana di vita, mediante la graduale sostituzione del latte intero con una miscela di concentrati ed ottimo fieno di erba medica, somministrati *ad libitum*, con risultati soddisfacenti. Nel 1944 risultati altrettanto soddisfacenti furono ottenuti da Cunningham e Nelson, della Stazione agraria sperimentale del Nuovo Messico, in un gruppo di vitelle da latte, di cui venne iniziato lo slattamento a partire dall'età di 28 giorni con la somministrazione *ad libitum* di una miscela, priva di proteine animali, e di fieno di erba medica di ottima qualità (1).

Nel 1948, Pounden e Hibbs (6), della Stazione agraria dell'Ohio tentarono lo slattamento precoce di vitelle di razza « Jersey » e « Guernsey » mettendo a loro disposizione ottimo fieno di erba medica ed una miscela di concentrati fin dal quinto giorno di vita, ricorrendo però all'inoculazione, nel gruppo dei vitelli di esperimento, della microflora del rumine prelevando dalla bocca di vacche in ruminazione porzioni di contenuto del rumine. Lo scopo di questo esperimento fu quello di introdurre nel rumine dei giovani vitelli, che ancora non aveva funzionato, i microrganismi (batteri e protozoi) che notoriamente intervengono nella digestione dei foraggi nel rumine stesso. Per quanto l'incremento medio in peso nei vitelli inoculati fosse risultato più basso in confronto a quello dei vitelli di controllo, pure fu notato nei primi un aspetto generale migliore di quello dei soggetti di controllo.

Altra interessante esperienza di svezzamento precoce è quella eseguita nel 1949 presso la Stazione agraria sperimentale di Pensilvania da Fyock e Knodt (3), i quali misero a disposizione delle vitelle di razza « Holstein Friesian », a partire dalla nascita, vari tipi di miscele con diverse percentuali di farina di banana — la quale ha specifiche qualità antidiarroiche — e fieno di erba medica di ottima qualità, mentre il latte, somministrato in quantitativi limitati, per abituare i vitelli ad ingerire precocemente sia il fieno che la miscela, fu soppresso alla fine della 7ª settimana di vita. I vitelli ebbero un aumento medio di peso superiore a quello medio della razza e godettero di un normale stato di salute. I casi di diarrea furono in generale di lieve entità e meno numerosi nei gruppi alimentati con miscela in cui la farina di banana era presente in maggiore percentuale.

Nel 1951 sono ancora Pounden e Hibbs, insieme a Cole, a sperimentare un sistema di allattamento precoce delle vitelle di razza lat-

tifera (7). Anche in questo esperimento il latte intero è stato somministrato in limitate quantità per abituare i vitelli ad ingerire precocemente sia il foraggio che i concentrati. Nell'esperimento in oggetto lo slattamento è stato portato a termine ad un mese e mezzo di vita. I vitelli sono stati divisi in vari gruppi ed è stato notato che i gruppi nei quali non veniva fatto uso di concentrati o ne veniva fatto un uso minimo mentre veniva somministrato *ad libitum* dell'ottimo foraggio sia verde sotto forma di pascolo, sia secco, sotto forma di fieno di medica, erano quelli che soggiacevano meno ai disturbi digerenti ed avevano un migliore aspetto generale.

Dall'esame di questo complesso di esperienze eseguite negli Stati Uniti d'America in questi ultimi anni risulta confermato il principio, al quale vennero ispirate le esperienze eseguite, nel 1942, dal dott. Landi, in questo Laboratorio, circa la possibilità di allevare vitelle di razza lattifera con limitato impiego di latte intero integrato ben presto da buon fieno e da una adatta miscela di concentrati da somministrare asciutta.

Dobbiamo, però, rilevare come nell'applicazione di questo principio non sia opportuno esagerare, nel senso che, per ottenere risultati favorevoli, è necessario somministrare alle vitelle non solo il colostro, ma anche il latte intero che segue alla secrezione colostrale per un periodo minimo di tempo. Secondo il prof. Giuliani, il periodo di regime colostrale-latte intero non dovrebbe essere inferiore a tre settimane. Alcune delle menzionate esperienze americane hanno dimostrato come sia possibile ridurre questo periodo, ma alla maggiore economia di latte intero, che così si può realizzare, corrisponde in generale un minore sviluppo delle giovani vitelle per cui è dubbia la convenienza economica di questo sistema basato sulla massima economia di latte intero.

Ecco a questo proposito, ciò che scrive il prof. Giuliani (4): « ... nelle prime tre settimane di vita il vitello deve essere alimentato esclusivamente con colostro e poi con latte intero. L'uso di altri alimenti, in questo periodo, non può che nuocere al vitello in quanto il suo sistema digerente non è ancora atto a digerire alimenti diversi dal latte intero. Ma a partire dai 20-25 giorni di età il vitello può già incominciare a mangiare ed a digerire piccole quantità di buoni foraggi (fieni, erba) e di mangimi concentrati ».

A proposito, poi, del regime colostrale dobbiamo rilevare che mentre la maggior parte degli autori consiglia di somministrare ai vitelli, nei primi giorni, piccole quantità di questo liquido (da 2-3 litri nel primo giorno a 4-5 litri alla fine della prima settimana), il prof. Giuliani è dell'avviso che convenga far ingerire al vitello la maggior quantità possibile di colostro, e ciò a causa dell'elevato contenuto in vitamina A e D di questo liquido e delle sue proprietà antinfettive. Così facendo, infatti,

si viene a dare al giovane vitello una forte carica vitaminica e si esaltano i suoi mezzi naturali di difesa contro le infezioni, così frequenti nei neonati. Ciò non significa che non si debba procedere con una certa gradualità nella somministrazione del colostro, somministrazione da effettuarsi con pasti relativamente frequenti. Evidentemente, le vitelle che avranno ricevuto molto colostro nella prima settimana ed un allattamento a base esclusiva di latte intero nelle due settimane successive si troveranno in migliori condizioni per essere sottoposte al sistema di allattamento di cui ci occupiamo.

Come furono impostate le esperienze

Come già si è accennato, le esperienze di cui è oggetto la presente relazione hanno avuto per scopo di controllare ed eventualmente perfezionare il sistema di allattamento economico e pratico delle vitelle di razza lattifera proposto dal prof. Giuliani e sperimentato dal dott. Landi nel 1942.

Purtroppo la deficienza di mezzi non ci ha consentito di eseguire le esperienze su un gruppo abbastanza numeroso di capi, anzi su due gruppi rispettivamente di controllo e di esperimento. Comunque, le esperienze vennero fatte su 4 vitelle in tempi successivi, dato che si dispose di vitelle nate in tempi successivi nella stalla sperimentale di questo Laboratorio.

Il sistema di allattamento e svezzamento precoce doveva essere eguale per tutte e quattro le vitelle e cioè consistere:

a) nella somministrazione esclusiva prima di colostro e poi di latte intero nelle prime 3-4 settimane, fino a raggiungere la quantità massima giornaliera di 8 litri;

b) a partire dalla 4ª-5ª settimana, riduzione di 1 litro di latte al giorno ogni 5 giorni e contemporanea messa a disposizione delle vitelle di modesti quantitativi di ottimo fieno di medica o di prato polifitico e di una miscela di mangimi concentrati rispondente ai seguenti requisiti: essere costituita da mangimi facilmente digeribili e bene appetiti; contenere circa il 18-22 % di protidi digeribili di cui una parte di origine animale; contenere sufficienti quantità di calcio e fosforo, di carotene o di vitamina A e di vitamina D;

c) messa a libera disposizione delle vitelle, in apposito recipiente, di acqua potabile da rinnovare spesso onde evitare il suo inquinamento.

Lo slattamento completo è stato realizzato tra mesi due e due e mezzo. Cessata la somministrazione del latte, si è continuato ad alimentare le vitelle con fieno di ottima qualità ed eventualmente con fieno ed erba mescolati fra loro e trinciati, per renderli più appetibili, e con una miscela di concentrati sempre rispondente ai requisiti generali suindicati ma resa

più economica, oltre ad acqua a libera disposizione; e ciò fino all'età di 4 mesi, dopo di che le vitelle vennero sottoposte al normale razionamento sulla base del metodo scandinavo.

Le vitelle vennero pesate, sempre a digiuno, alla nascita e poi ogni 10 giorni.

Nel periodo di alimentazione colostrale la razione venne somministrata in 3 pasti giornalieri, che vennero ridotti a due quando si passò dal regime colostrale a quello di latte normale.

Allo scopo, poi, di controllare l'esatto consumo giornaliero di fieno e di miscela, questi alimenti venivano pesati volta per volta e quindi messi in due cassette separate appese al cancello del box, così come veniva messa a libera disposizione delle vitelle l'acqua fresca mediante un apposito recipiente fissato ad un angolo dello stesso box. Naturalmente prima di mettere nelle cassette il fieno e la miscela venivano asportati gli eventuali residui, che erano pesati accuratamente in guisa da poter calcolare, giorno per giorno, le quantità esatte di fieno e di miscela consumate. Il tutto veniva registrato sull'apposita tabella individuale. Le vitelle, per tutto il periodo dell'esperienza, vennero tenute sotto osservazione per rilevare l'aspetto generale, la normalità o meno della defecazione e lo stato di salute. Queste osservazioni continuarono anche nel periodo successivo allo slattamento.

Premesse queste notizie generali, passiamo, ora, ad illustrare le singole esperienze ed i relativi risultati.

Prima esperienza

La prima esperienza venne eseguita su una vitella di razza « Bruna alpina », a nome Brunetta, nata nella stalla del Laboratorio il 27 novembre 1949, del peso di kg 35 alla nascita.

La vitella, dopo la legatura, il taglio e la disinfezione del cordone ombelicale, e dopo essere stata bene asciugata e strofinata, venne messa nell'apposito box, dove nelle prime 24 ore ricevette 2 litri di colostro in 4 pasti, somministrati mediante il poppatoio Zappa-Pirocchi. Nel secondo giorno ricevette 3 litri di colostro e dal 3° al 7° giorno ne ricevette 4 litri al giorno. Nella seconda settimana la vitella ricevette prima 5 e poi 6 litri di latte al giorno, sempre mediante poppatoio ed in due pasti. Nella terza settimana, infine, ricevette una razione di 7 litri di latte in due pasti.

A norma dello schema di allattamento predisposto, con l'inizio della quarta settimana si sarebbe dovuto iniziare la somministrazione di fieno e della miscela asciutta. Senonchè, a causa del mancato arrivo di alcuni



FIG. 1. – La manzetta Brunetta all'età di 22 mesi.

ingredienti della miscela, fu giuocoforza continuare nel regime esclusivo di latte intero fino al 36° giorno, elevando però la razione da 7 ad 8 litri giornalieri in due pasti.

Nel frattempo si procedette alla preparazione della seguente miscela:

farina di granoturco giallo	30 %
semola glutinata di mais	20 »
farina di germe di mais	10 »
farina di estrazione di soja	10 »
farina di foglie di erba medica	10 »
polvere di latte scremato	10 »
miscela proteico-minerale-vitaminica (ricca di vitamine A e D)	10 »
	100

Questa miscela conteneva il 18,28 % di proteina digeribile, aveva un valore nutritivo di 96,82 unità foraggere ed era bene appetita dalla vitella.

A partire dal 37° giorno di vita si ridusse da 8 a 7 litri giornalieri il latte intero, che venne somministrato in due pasti, e si cominciò a mettere a disposizione della vitella circa 200 gr di ottimo fieno di medica e circa 150 gr di detta miscela nonchè dell'acqua fresca. Successivamente, ogni 5 giorni, venne ridotto di 1 litro la razione di latte ed aumentati i quan-

titativi di fieno di medica e di miscela in relazione all'appetito dimostrato dalla vitella, che si è sempre lasciata libera di regolarsi a volontà nei riguardi del consumo del fieno e della miscela.

A partire dal 74° giorno di età il latte venne completamente soppresso e la razione risultò esclusivamente di fieno e di miscela, consumati *ad libitum*. Si procedette, tuttavia, ad una revisione della miscela in relazione alle nuove esigenze della vitella e allo scopo di renderla più economica. La nuova miscela, messa a disposizione della vitella dall'81° giorno di età, è risultata così costituita * :

farina di granoturco giallo	30 %
farina di estrazione di soja	30 »
cruschello di frumento	25 »
farina di foglie di erba medica	10 »
miscela proteico-minerale-vitaminica . . .	5 »
	100

Il contenuto in proteina digeribile di questa miscela è risultato del 19,88 % ed il suo valore nutritivo di 95,66 unità foraggere.

Nella tabella seguente sono riassunti i dati relativi al razionamento ed ai pesi della vitella Brunetta:

Età giorni	Latte per giorno kg	Latte totale kg	Fieno totale kg	Miscela totale kg	Pesi della vitella kg
1	2	2			35
2	3	3			
3-7	4	20			
8-10	5	15			
11-17	6	42			
18-26	7	63			
27-36	8	80		miscela n. 1	
37-41	7	35	0,115	0,140	57 (età 36 giorni)
42-46	6	30	0,565	0,622	62 (» 45 »)
47-51	5	25	0,999	1,021	
52-56	4	20	1,200	1,260	68 (» 55 »)
57-61	3	15	1,640	1,710	
62-73	2	24	9,490	9,450	74 (» 65 »)
74-80			7,270	6,970	81 (» 80 »)
				miscela n. 2	
81-94			21,340	21,660	94 (» 94 »)
95-109			27,810	28,460	102 (» 109 »)
110-126			37,240	40,730	116 (» 126 »)
	Totali . . .	374	107,669	122,023	81

* Facciamo presente che nella costituzione sia di queste che delle altre miscele somministrate in sostituzione del latte abbiamo sempre fatto entrare la farina di foglie di erba medica per le sue preziose qualità proteico-minerali-vitaminiche.

Stato di salute: ottimo.
Incremento medio giornaliero di peso nel periodo a latte intero: kg 0,611.
Incremento medio giornaliero di peso nel periodo a regime misto: kg 0,586.
Incremento medio giornaliero di peso nel periodo a regime foraggero: kg 0,688.
Incremento medio giornaliero di peso dalla nascita a 126 giorni: kg 0,642.
Consumo totale di alimenti espressi in unità foraggere: 280,43
Consumo di U. F. per chilo di aumento di peso vivo: 3,46.
Consumo di proteina digeribile per chilo di aumento di peso vivo: kg 0,584.

Dai dati riportati risulta che la vitella Brunetta è sempre stata in ottime condizioni di salute e non ha presentato disturbi di sorta. Il suo incremento medio giornaliero di peso, dalla nascita a 126 giorni di età, è stato di kg 0,642, con un minimo di kg 0,586 nel periodo del regime misto ed un massimo di kg 0,688 nel periodo finale a base esclusiva di fieno e miscela.

Se si tiene presente che le vitelle di razza lattifera, nel periodo dell'allattamento e slattamento, presentano un incremento medio giornaliero di circa kg 0,700, si deve ammettere che l'incremento in peso della vitella Brunetta è stato piuttosto basso, ma lo è stato anche nel periodo a regime latteo. In verità, si trattava di una vitella di modesto sviluppo, come lo dimostra il fatto che alla nascita pesava appena 35 chili.

È tuttavia interessante rilevare che la vitella non ha presentato disturbi di sorta e che non ha subìto una vera crisi di slattamento.

Ed ecco — agli effetti economici — i dati assoluti e relativi riguardanti il consumo totale di latte, di fieno e di miscela dalla nascita a 126 giorni ed i relativi costi:

latte kg 374 a L. 50	L. 18.700
fieno di erba medica kg 107,669 a L. . .	» 2.476
miscela n. 1 kg 21,173 a L. 110 . . .	» 2.329
miscela n. 2 kg 90,850 a L. 68 . . .	» 6.177
Totale . . .	L. 29.682

Costo di 1 kg di aumento di peso vivo: L. 366.

Allo scopo di poter istituire un confronto tra il costo dell'allattamento della vitella Brunetta e quello dell'allattamento di una vitella della stessa razza e per lo stesso periodo secondo il sistema tradizionale diremo che, dalle menzionate esperienze del dott. Landi, è risultato che una vitella allattata secondo questo sistema ha consumato nello stesso periodo di tempo:

latte intero kg 908 a L. 50	L. 45.400
fieno kg 10,450 a L. 23	» 2.403
miscela kg 87,150 a L.	» 5.926
Totale . . .	L. 53.729

La differenza di spesa, tra i due sistemi di allattamento, sarebbe dunque stata di (53.729 — 29.682) ben 24.047 lire! Vero è che col sistema tradizionale di allattamento si è ottenuto un incremento medio giornaliero di kg 0,848 di fronte a kg 0,642 ottenuto nella vitella Brunetta. A questo proposito è però da rilevare che, trattandosi di vitelle di razza lattifera, non è necessario che durante l'allattamento esse presentino grandi aumenti di peso. L'importante è che le vitelle si mantengono sane giacchè, in questi casi, esse possono rifarsi, come peso, nel periodo successivo allo slattamento. Difatti la vitella Brunetta è stata mantenuta sotto controllo anche dopo lo slattamento, e precisamente fino all'età di 216 giorni, continuando a ricevere lo stesso regime alimentare: ebbene, in questo periodo l'incremento medio giornaliero è stato di kg 0,714.

Seconda esperienza

La seconda esperienza venne eseguita su una vitella meticcia « Bruna alpina » × « Frisona », nata in questo Laboratorio, del peso alla nascita di kg 46, denominata Bionda.

Seguendo lo schema predisposto, la vitella venne sottoposta all'allattamento artificiale ricevendo dapprima il colostro e poi il latte intero nelle stesse quantità somministrate alla vitella Brunetta, raggiungendo la quantità massima giornaliera di 8 litri al quindicesimo giorno. A partire dal 22° giorno si cominciò a mettere a disposizione della vitella una piccola quantità di buon fieno di prato stabile di secondo taglio (agostano) ed una piccola quantità di una miscela così costituita:

farina di granoturco giallo	30 %
farina di estrazione di arachide	20 »
farina di estrazione di lino	5 »
farina di albumina *	25 »
farina di foglie di erba medica	20 »
	100

Inoltre a questa miscela venne aggiunto il 2 % di fosfato bicalcico, l'1 % di carbonato di calcio ed il 0,5 % di lievito irradiato Fleischmann contenente 9000 unità internazionali di vitamina D_2 per grammo. Questa miscela conteneva il 22,21 % di proteina digeribile ed aveva un valore nutritivo di 98,82 unità foraggere. Essa conteneva una buona percentuale di proteina di origine animale, sufficienti quantità di calcio e fosforo, sufficiente quantità di carotene, apportato dalla farina di foglie di medica, e sufficiente quantitativo di vitamina D_2. Nel complesso questa miscela è

---

* La farina di albumina è il residuo della fabbricazione industriale della caseina ed ha sostituito la polvere di latte scremato.



FIG. 2. – La manzetta Bionda all'età di 14 mesi.

risultata migliore della miscela sperimentata nella esperienza n. 1. Essa venne messa a libera disposizione della vitella fino all'82° giorno di età. A partire da questa età la miscela n. 1 venne sostituita da un'altra miscela più economica così costituita:

farina di granoturco giallo	30 %
cruschello di frumento	26 »
farina di estrazione di arachide	15 »
farina di estrazione di lino	15 »
farina di foglie di erba medica	10 »
sale pastorizio	2 »
fosfato bicalcico	2 »
	100

Poichè questa miscela non conteneva praticamente la vitamina D, durante il periodo della sua somministrazione la vitella ricevette gr 30 al giorno di olio di fegato di merluzzo, che è notoriamente ricco di vitamine D ed A.

Con la messa a disposizione del fieno e della miscela n. 1 si iniziò la graduale riduzione del latte intero in ragione di 1 litro ogni 5 giorni, per cui a partire dal 62° giorno venne sospesa completamente la sommini-

strazione del latte e la vitella si alimentò *ad libitum* di fieno di prato stabile (agostano) e della miscela n. 1 e poi n. 2 fino all'età di 126 giorni, dopo di che venne sottoposta al normale razionamento secondo il metodo scandinavo.

Nella tabella seguente sono riportati i dati relativi al razionamento ed ai pesi della vitella Bionda:

Età giorni	Latte per giorno kg	Latte totale kg	Fieno totale kg	Miscela totale kg	Pesi della vitella kg
1	2	2			46 (nascita)
2	3	3			
3-5	4	12			
6-8	5	15			
9-11	6	18			56 (10° giorno)
12-14	7	21			
15-21	8	56		miscela n. 1	
22-25	8	32	0,015	0,020	
26-30	7	35	0,140	0,135	69 (26° giorno)
31-35	6	30	0,240	0,230	
36-40	5	25	0,300	0,290	
41-45	4	20	0,370	0,345	78 (41° giorno)
46-50	3	15	0,485	0,470	
51-61	2	22	2,845	2,915	87 (56° giorno)
62-73			5,750	6,130	98 (73° giorno)
74-82			7,950	7,940	104 (82° giorno)
				miscela n. 2	
83-92			18,380	13,990	110 (92° giorno)
93-102			22,950	16,390	118 (102° giorno)
103-112			26,150	17,890	125 (112° giorno)
113-122			28,180	19,440	137 (122° giorno)
123-126			11,780	8,180	140 (126° giorno)
Totali . . .		306	125,535	94,365	94

Stato di salute della vitella: ottimo.
Incremento medio giornaliero nel periodo di latte intero: kg 0,884.
Incremento medio giornaliero nel periodo a regime misto: kg 0,600.
Incremento medio giornaliero nel periodo a regime foraggero: kg 0,747.
Incremento medio giornaliero dalla nascita a 126 giorni: kg 0,746.
Consumo totale di alimenti espresso in unità foraggere: 252,95.
Consumo di U. F. per chilo di aumento di peso vivo: 2,69.
Consumo di proteina digeribile per chilo di aumento di peso vivo: kg 0,391.

Dai dati riportati risulta che la vitella Bionda è sempre stata in ottime condizioni di salute e dalla nascita al 126° giorno di età ha presentato un aumento medio giornaliero di peso di kg 0,746, aumento da considerare buono e sensibilmente superiore a quello della vitella Brunetta.

Questo maggiore incremento in peso della vitella Bionda in confronto alla Brunetta è da attribuire sia al fatto che si trattava di vi-

tella che già alla nascita presentava un ottimo sviluppo (kg 46) sia al fatto che ad essa, come già si è detto, venne somministrata una miscela migliore.

La vitella Bionda ha continuato ad essere alimentata secondo il sistema descritto anche dopo lo slattamento e precisamente fino all'età di 180 giorni, in cui raggiunse il peso di kg 193, pari ad un incremento medio giornaliero di kg 0,980.

Agli effetti economici riportiamo, qui appresso, i dati relativi al consumo di latte, di fieno e di miscela ed i relativi costi dalla nascita a 126 giorni di età:

latte intero kg 306 a L. 50	L. 15.300
fieno di prato stabile kg 125,535 a L. 23	» 2.787
miscela n. 1 kg 18,475 a L. 60	» 1.108
miscela n. 2 kg 75,890 a L. 52	» 3.946
Totale . . .	L. 23.141

Costo di 1 kg di aumento di peso vivo: L. 246.

Dai dati suesposti risulta che, nel complesso, la vitella Bionda, pur essendo stata tenuta a regime esclusivo di latte intero soltanto nelle prime tre settimane ed essendo stata completamente slattata all'età di 2 mesi con un consumo complessivo tra colostro e latte di appena 306 kg, ha avuto uno sviluppo perfettamente regolare e non ha dato luogo ad inconvenienti di sorta. D'altra parte la spesa assoluta e relativa di alimentazione di questa vitella dalla nascita fino a 126 giorni di età è risultata ancora più bassa che nella vitella Brunetta.

Terza esperienza

La terza esperienza venne eseguita su una vitella meticcia « Bruna alpina » × « Danese », nata in questo Laboratorio, proveniente da parto gemellare, del peso alla nascita di kg 30 (il peso del fratello gemello era di kg 28). Dato lo scarso sviluppo della vitella e la sua origine gemellare non sarebbe stato consigliabile allevarla. Ciò malgrado l'abbiamo sottoposta ad esperimento data la mancanza di un altro soggetto più adatto. Ad ogni modo, per rimediare in parte al deficiente sviluppo della vitella, abbiamo deciso di mantenerla a regime di latte intero per 4 settimane anzichè per 3.

In questo periodo la vitella ricevette, mediante poppatoio, prima il colostro e poi il latte intero, partendo da 2 litri nel primo giorno dalla nascita fino a raggiungere gli 8 litri alla terza e quarta settimana.

A partire dalla quinta settimana, la vitella cominciò ad avere a disposizione modeste quantità di fieno di prato stabile (agostano) di buona qualità e di una adatta miscela asciútta, oltre ad acqua fresca rinnovata giorno per giorno.

La miscela venne costituita nel modo seguente:

farina di granoturco giallo	25 %
farina d'estrazione di arachide	20 »
farina di estrazione di lino	15 »
farina d'orzo	10 »
cruschello di frumento	10 »
farina di foglie di erba medica	10 »
polvere di latte magro	10 »
	100

Alla miscela vennero poi aggiunti il 2 % di fosfato bicalcico, l'1 % di carbonato di calcio e lo 0,5 % di lievito secco irradiato Fleischmann contenente 9000 unità internazionali di vitamina D_2 per grammo. Questa miscela conteneva il 20,56 % di proteina digeribile ed aveva un valore nutritivo di U. F. 105,64. Essa era sufficientemente provvista di calcio, fosforo, carotene e vitamina D_2.

Lo slattamento della vitella avvenne gradualmente secondo lo schema già descritto e la somministrazione di latte cessò praticamente all'età di 68 giorni, dopo di che la vitella continuò a nutrirsi di fieno agostano e della miscela suindicata fino all'età di 126 giorni, alla quale età venne sottoposta al normale razionamento.

Nella tabella seguente sono riportati i dati relativi al razionamento ed i pesi della vitella dalla nascita fino al 126° giorno di età:

Età giorni	Latte giornaliero kg	Latte totale kg	Fieno totale kg	Miscela totale kg	Pesi della vitella kg
1	2	2			30 (alla nascita)
2	3	3			
3-6	4	16			
7-10	5	20			
11-14	6	24			
15-18	7	28			
19-28	8	80			
29-32	8	32	0,050	0,050	51 (29° giorno)
33-37	7	35	0,150	0,130	55 (34° giorno)
38-42	6	30	0,260	0,250	
43-47	5	25	0,520	0,370	61 (45° giorno)
48-52	4	20	1,000	0,710	
53-57	3	15	1,660	1,590	
58-68	2	22	7,580	6,190	75 (65° giorno)
69-78			11,950	9,240	84 (78° giorno)
79-93			24,610	20,160	97 (93° giorno)
94-107			28,540	23,650	107 (107° giorno)
108-121			33,950	28,750	119 (121° giorno)
122-126			13,460	11,560	123 (126° giorno)
Totali . . .		352	123,730	102,650	93

Stato di salute della vitella: ottimo.
Incremento medio giornaliero nel periodo a latte intero: kg 0,724.
Incremento medio giornaliero nel periodo a regime misto: kg 0,666.
Incremento medio giornaliero nel periodo a regime foraggero: kg 0,786.
Incremento medio giornaliero dalla nascita al 126° giorno: kg 0,738.
Consumo totale di alimenti espresso in unità foraggere: 286,46.
Consumo di U. F. per 1 kg di aumento di peso: 3,080.
Consumo di proteina digeribile per kg di aumento di peso: kg 0,461.

Dai dati riportati risulta che la vitella Rossina, malgrado la sua origine gemellare ed il suo peso modesto alla nascita, ha presentato uno sviluppo regolare con un incremento medio giornaliero di peso, dalla nascita al 126° giorno di età, di kg 0,738 che è perfettamente normale. D'altra parte il consumo di unità nutritive per chilo di aumento di peso è pure risultato basso (circa 3 unità foraggere). Infine è da rilevare che lo stato di salute della vitella si è sempre mantenuto buono.

Riportiamo, ora i dati relativi al consumo totale di latte, di fieno e di miscela ed i relativi costi:

latte kg 352 a L. 50	L. 17.600
fieno di prato stabile kg 123,730 a L. 22	» 2.722
miscela kg 102,650 a L. 73,20	» 7.504
Totale . . .	L. 27.826

Costo di 1 kg di aumento di peso vivo: L. 299.

Dalle quali cifre risulta che la spesa complessiva di alimentazione, assoluta e relativa, della vitella Rossina è risultata un po' superiore a quella della vitella dell'esperienza precedente a causa del fatto che l'allattamento a base di latte intero è stato prolungato a tutta la quarta settimana. Tuttavia la convenienza economica appare evidente dal fatto che il costo medio del chilo di aumento di peso vivo è risultato di lire 299.

Quarta esperienza

La quarta esperienza venne eseguita su una vitella di razza « Bruna alpina », nata in questo Laboratorio, a nome Chiara, del peso alla nascita di kg 39. Dato che si trattava di vitella di peso normale ad essa venne applicato il sistema di allattamento predisposto e cioè alimentazione a base di colostro e di latte dalla nascita fino alla fine della terza settimana con



FIG. 3. – La manzetta Chiara all'età di 9 mesi.

somministrazioni giornaliere crescenti di colostro e di latte da 2 fino al massimo di 8 litri al giorno; quindi, a partire dall'inizio di questa settimana, riduzione di 1 litro di latte ogni 5 giorni e messa a disposizione della vitella di modeste quantità di buon fieno agostano e di una miscela costituita come quella usata per la vitella Rossina ma nella quale, oltre all'aggiunta dello 0,5 % di lievito irradiato Fleischmann, si è aggiunto anche il 2 % di « Nopcay », un integrativo vitaminico contenente 4000 U. S. P. di vitamina A.

Lo slattamento della vitella avvenne gradualmente ed automaticamente secondo il sistema già descritto: cioè a partire dalla quinta settimana la dose giornaliera di latte venne ridotta a 7 litri e poi di 1 litro ogni 5 giorni fino a sopprimerlo completamente all'età di 61 giorni.

Nella tabella seguente sono riportati i dati relativi al razionamento della vitella ed i pesi della stessa dalla nascita fino al 126° giorno di età:

Età giorni	Latte giornaliero kg	Latte totale kg	Fieno totale kg	Miscela totale kg	Pesi della vitella kg
1	2	2			39 (alla nascita)
2	3	3			
3-5	4	12			
6-8	5	15			
9-11	6	18			
12-14	7	21			
15-21	8	56			
22-25	8	32	0,400	0,320	55 (22° giorno)
26-30	7	35	0,950	0,790	
31-35	6	30	1,080	1,270	
36-40	5	25	1,870	1,700	71 (38° giorno)
41-45	4	20	2,480	2,160	
46-50	3	15	3,110	2,680	
51-61	2	22	9,100	7,690	77 (53° giorno)
62-67			6,640	5,910	91 (67° giorno)
68-81			19,480	17,020	104 (81° giorno)
82-97			28,260	24,980	118 (97° giorno)
98-112			31,440	24,500	130 (112° giorno)
113-126	-		36,290	24,430	141 (126° giorno)
Totali . . .		306	141,400	113,720	102

Stato di salute della vitella: ottimo.
Incremento medio giornaliero di peso nel periodo a latte intero: kg 0,762.
Incremento medio giornaliero di peso nel periodo a regime misto: kg 0,710.
Incremento medio giornaliero di peso nel periodo a regime foraggero: kg 0,836.
Incremento medio giornaliero di peso dalla nascita al 126° giorno: kg 0,809.
Consumo totale di alimenti espresso in U. F.: 301,70.
U. F. consumate per produrre 1 kg di aumento di peso vivo: 2,86.
Proteina digeribile per kg di aumento di peso: kg 0,430.

Da questi dati appare evidente come questa vitella, di peso normale alla nascita ed allattata secondo il sistema predisposto (3 settimane di regime colostrale-latteo e slattamento completo all'età di 2 mesi con un consumo globale tra colostro e latte di appena kg 306) non solo si è mantenuta in ottime condizioni di salute ma ha avuto uno sviluppo assolutamente normale con un incremento medio giornaliero dalla nascita al 126° giorno di kg 0,809. D'altra parte il consumo di unità foraggere per 1 chilo di aumento di peso è risultato più basso che nelle esperienze precedenti (U. F. 2,86). È poi da rilevare che la vitella Chiara, mantenuta sotto controllo fino all'età di 188 giorni, ha raggiunto il peso di kg 194, pari ad un incremento medio giornaliero di kg 0,850.

Riportiamo, ora, i dati relativi al consumo totale di latte, fieno e miscela ed i relativi costi:

latte kg 306 a L. 50	L. 15.300
fieno agostano kg 141,460 a L. 22 . .	» 3.111
miscela kg 113,720 a L. 78,45	» 8.922
Totale . . .	L. 27.333

Costo di 1 kg di aumento di peso vivo: L. 315.

Il risultato economico concorda su per giù con quello ottenuto nelle esperienze nn. 2 e 3 e costituisce una conferma della grande economia di spesa realizzabile col sistema di allattamento da noi sperimentato.

Discussione e conclusioni

Dai risultati delle esperienze che siamo venuti descrivendo — e che rappresentano una continuazione delle esperienze fatte nel 1942 in questo stesso Laboratorio dal dott. A. Landi — risulta anzitutto confermata la praticità e razionalità del sistema di allattamento di vitelle di razza lattifera proposto dal prof. Giuliani e che si basa sui seguenti principî:

1) somministrazione alle vitelle, nella prima settimana, a mezzo poppatoio, del colostro materno in quantità crescenti da 2 a 5 litri giornalieri in 3 pasti;

2) somministrazione, nella seconda e terza settimana, di latte intero fino a raggiungere nella terza settimana, gli 8 litri giornalieri in 2 pasti;

3) nella quarta settimana, messa a disposizione delle vitelle, in cassette separate, di piccole quantità di ottimo fieno di medica o di agostano polifitico e di una miscela rispondente a determinati requisiti nonchè di acqua potabile lasciando inalterata la quantità di 8 litri di latte;

4) a partire dalla quinta settimana riduzione di 1 litro della razione di latte da effettuarsi ogni 5 giorni, fino a sopprimerlo a circa 2 mesi, lasciando però sempre a disposizione delle vitelle il fieno e la miscela indicati e l'acqua potabile da consumare a volontà;

5) a partire dall'inizio del terzo mese soppressione del latte intero e continuazione nell'alimentazione *ad libitum* delle vitelle col fieno, la miscela e l'acqua usati in precedenza;

6) a partire dal quinto mese sospensione del regime indicato e razionamento normale delle vitelle secondo il metodo scandinavo.

Qualora si tratti di vitelle che alla nascita dimostrino uno scarso sviluppo si consiglia di prolungare il regime a latte intero fino alla quarta settimana per procedere poi nel modo già descritto.

Gli obbiettivi ai quali si mira con questo sistema sono due e cioè:

1) ridurre al minimo il costo del latte intero ed il costo di alimentazione delle vitelle;

2) semplificare al massimo le manualità dell'allattamento artificiale ed evitare il pericolo di facile insorgenza di disturbi digerenti conseguenti alla somministrazione in forma liquida di succedanei del latte.

Questa seconda serie di esperienze, sebbene eseguita su un numero limitato di vitelle e non sempre di vitelle che si trovavano nelle condizioni desiderabili (si pensi alla vitella Rossina proveniente da parto gemellare e che alla nascita pesava appena 30 kg), mentre ha permesso di perfezionare la tecnica del nuovo metodo ha fornito risultati di notevole interesse.

Dalle esperienze è risultato, anzitutto, che il metodo è di una grande semplicità e praticità per cui è da prevedere che esso sia destinato ad avere una grande diffusione. È anche risultato che con questo metodo non si verifica l'inconveniente, purtroppo frequente a constatarsi nei casi di allattamento con succedanei liquidi del latte, di disturbi digerenti (diarrea) conseguenti ad alterazioni dei succedanei stessi od a deficiente pulizia dei relativi recipienti. Nessuna delle quattro vitelle, in nessun periodo, ha manifestato disturbi seppure leggeri.

Dal punto di vista fisiologico, le esperienze hanno dimostrato che le vitelle, pur con un consumo di latte che è stato circa un terzo del normale, hanno avuto uno sviluppo regolare, e soprattutto non sono andate incontro a quella crisi di slattamento che è così frequente a riscontrarsi nei comuni sistemi di allattamento.

Dal punto di vista economico, poi, i risultati sono stati particolarmente favorevoli sebbene le esperienze siano state fatte in un periodo di basso prezzo del latte (a Firenze, infatti, all'epoca delle esperienze, il latte era pagato al produttore appena 50 lire al litro). A questo proposito è superfluo rilevare che la convenienza economica del nuovo sistema, basato su un consumo minimo di latte intero, è tanto maggiore quanto più elevato il prezzo del latte.

Riepilogati i risultati delle esperienze ed i vantaggi del metodo riteniamo opportuno accennare alle condizioni da realizzare perchè il metodo risponda effettivamente allo scopo.

Fra queste condizioni sono di fondamentale importanza le seguenti:

1) la qualità del fieno;
2) la preparazione della miscela;
3) la somministrazione degli alimenti e dell'acqua.

Il fieno da impiegare per l'alimentazione delle giovani vitelle non può essere il fieno comune ma deve essere un fieno tenero, foglioso, profumato, povero di fibra, ricco di proteina, di carotene e di sostanze minerali. Questo fieno si dovrebbe produrre appositamente ricavandolo o da buoni medicai o da ottimi prati polifitici utilizzando però il secondo taglio (agostano) ed avendo cura di falciare l'erba quando è ancora giovane e di farla essiccare rapidamente al sole. L'ideale, anzi, sarebbe di disporre di erba giovane disidratata artificialmente. Questo fieno è veramente portentoso per lo slattamento dei vitelli.

Di somma importanza è poi la preparazione della miscela che deve risultare di diversi mangimi facilmente digeribili e che, come già abbiamo detto, deve contenere dal 18 al 22 % di proteina digeribile, di cui almeno un quarto di origine animale (ottima la polvere di latte scremato o la farina di albumina o la farina di sangue, meno adatte le farine di carne e di pesce anche per la loro scarsa appetibilità) e deve inoltre essere opportunamente integrata dal lato minerale-vitaminico, specialmente per quanto concerne l'apporto della vitamina A o della sua provitamina (carotene) e la vitamina D. Un ingrediente della miscela che riteniamo indispensabile è rappresentato dalla farina di foglie di erba medica, che è molto superiore alla farina di fieno di erba medica sia pure di buona qualità.

Nelle nostre esperienze abbiamo impiegato miscele un po' diverse da esperienza ad esperienza anche per meglio orientarci circa il tipo di miscela meglio rispondente. Delle miscele sperimentate quella che ha dato migliori risultati è la miscela della terza esperienza così costituita:

farina di granoturco giallo	25 %
farina di estrazione di arachide	20 »
farina di estrazione di lino	15 »
farina di orzo	10 »
farina di foglie di erba medica	10 »
cruschello di frumento	10 »
polvere di latte magro	10 »
fosfato bicalcico	2 »
carbonato di calcio	1 »
lievito irradiato Fleischmann	0,5 »

Come si vede, si tratta di una miscela che qualsiasi allevatore può preparare ed il cui costo è relativamente basso.

Infine vogliamo rilevare che, se il nuovo metodo di allattamento è stato da noi sperimentato unicamente su vitelle di razza lattifera, è evidente come esso possa trovare utile impiego nell'allevamento dei vitelli e delle vitelle delle razze da carne e da lavoro non certo allo scopo di sostituire l'allattamento materno, ma bensì allo scopo di integrare quest'ultimo.

Abbiamo, infatti, già rilevato come nelle razze da carne e da lavoro (« Chianina », « Romagnola », « Marchigiana », « Chianina » × « Maremmana ») spesso la produzione di latte delle vacche è insufficiente per soddisfare le esigenze e la capacità di crescenza dei vitelli. Ebbene, in questi casi noi riteniamo che a partire dalla 4ª-5ª settimana di vita possa riuscire molto utile integrare l'allattamento materno con la messa a disposizione dei vitelli di ottimo fieno e di una miscela del tipo che abbiamo sperimentato, nonchè di acqua potabile.

RIASSUNTO

Dopo aver accennato all'opportunità di risolvere il problema dell'allattamento economico delle vitelle di razza lattifera con la somministrazione di limitati quantitativi di latte intero, da integrarsi con miscele di concentrati asciutte e con fieno di adatte qualità, e dopo aver riassunto precedenti ricerche eseguite in proposito, l'A. espone la tecnica adottata ed i risultati ottenuti in una serie di esperienze condotte su 4 vitelle di razza lattifera.

La tecnica, in breve, ha consistito nel somministrare alle vitelle esclusivamente il colostro, prima, ed il latte intero, poi, per un periodo non inferiore alle prime 3 settimane di vita e nell'integrare poi il latte, che veniva gradualmente diminuito fino ad essere soppresso al 61°-73° giorno, con ottimo fieno foglioso di erba medica od agostano polifitico e con miscele asciutte contenenti il 18-22 % di proteina digeribile, in parte di origine animale (polvere di latte scremato o farina di albumina) e provviste di sufficienti quantitativi di calcio, fosforo, carotene o vitamina A e vitamina D. Alle vitelle veniva poi messa a disposizione acqua di bevanda a volontà. Fino alla fine del 4° mese le vitelle venivano alimentate *ad libitum* con fieno e con una miscela rispondente ai requisiti suesposti, mentre all'inizio del quinto mese si iniziava il normale razionamento col metodo scandinavo.

Con questa tecnica, che ha permesso il consumo di appena 3-3,7 qli di latte intero, invece dei 9 che all'incirca occorrono col sistema normale, sono stati ottenuti interessanti risultati sia dal punto di vista fisiologico che da quello economico.

Dal punto di vista fisiologico, queste esperienze hanno consentito di constatare come le 4 vitelle dell'esperimento abbiano avuto uno sviluppo regolare (incrementi medi giornalieri individuali fino al 126° giorno oscillanti fra 0,642 e 0,802 kg), non siano soggiaciute a disturbi digerenti e non siano andate incontro a crisi di slattamento.

Dal punto di vista economico, è stata realizzata una notevole economia di alimentazione nonostante che le esperienze siano state eseguite in un periodo di basso prezzo del latte.

Data la sua semplicità è prevedibile che il metodo sia destinato ad avere una grande diffusione come pure è prevedibile che si possa usarlo anche nell'allevamento di vitelli e vitelle delle razze da carne e da lavoro per integrare l'allattamento materno quando questo sia insufficiente a soddisfare le loro esigenze nutritive.

SUMMARY

A CONTRIBUTION TO THE STUDY OF A PRACTICAL AND ECONOMICAL METHOD OF FEEDING DAIRY CALVES

by Angelo Meregalli

After having alluded to the opportunity of resolving the problem of economically feeding dairy calves with the administering of limited quantities of whole milk by supplementing them with mixtures of dried concentrates and with hay of suitable quality, and after having summarized preceding researches executed on the subject, the author explains the technique adopted and the results obtained in a series of experiments conducted on four dairy calves.

The technique, in brief, consisted in giving the calves exclusively the colostrum first, and the whole milk after, for a period not less than the first three weeks of life and then supplementing the milk, which was gradually diminished until it was suppressed at the 61st-73rd day, with the best leafy hay of alfalfa or other mixed hay and with dried mixtures containing 18-22 % of digestible protein, in part of animal origin (skimmed milk powder or albumin flour) and provided with sufficient quantities of calcium, phosphorus, carotene or vitamin A and vitamin D. The calves then had drinking water freely put at their disposition. Up to the end of the 4th month the calves were fed *ad libitum* with hay and with mixtures meeting the above listed requisites, while at the beginning of the fifth month normal rationing with the Scandinavian method was initiated.

With this technique, which has permitted the consumption of scarcely 3-3.7 qli of whole milk instead of the approximate 9 which are needed with the normal system, interesting results have been obtained both from the physiological and the economical points of view.

From the physiological point of view these experiments have made it possible to state that the 4 tested calves have had a regular development (mean daily individual increases up to 126th day varying between 0.642 and 0.802 kg), have not been subject to digestive disturbances and have not gone through weaning crises.

From the economic point of view, a notable economy of feeding has been realized notwithstanding the fact that the experiments were carried on in a period of low priced milk.

Given its simplicity, it is predictable that the method is destined to have a great diffusion and that it can also be used in the raising of calves and heifers bred for meat and work in order to supplement the maternal suckling when this is insufficient to satisfy their nutritive needs.

BIBLIOGRAFIA

(1) Cunningham, O. C., and Nelson, D. H. Raising calves on a limited amount of milk. *Agric. Exp. Sta., New Mexico Coll. Agric. and Mech. Arts, Bull. No. 318,* 1944.

(2) Engeler, W. Das schweizerische Braunvieh. Frauenfeld 1947.

(3) Fyock, W. D., and Knodt, C. B. Use of dehydrated banana meal in the ration of dairy calves. *Journ. of Dairy Sci.*, 1949, 4.

(4) Giuliani, R. Produzione ed allevamento razionale ed economico dei vitelli. *Riv. Zoot.*, 1939, 9.

(5) Landi, A. Esperienze di allattamento di vitelle di razza lattifera con limitato impiego di latte. *Riv. Zoot.*, 1942, 11-12.

(6) Pounden, W. D., and Hibbs, J. W. The influence of the ration and rumen inoculation on the establishment of certain microorganisms in the rumen of young calves. *Journ. of Dairy Sci.*, 1948, 12.

(7) Pounden, W. D., Hibbs, J. W., and Cole, C. R. Observations on the relation of diet to diarrhea in young dairy calves. *Journ. of Am. Vet. Med. Ass.*, 1951, 6.

(8) Tretseven, J. O. Raising dairy calves on dry meal. Preliminary report. *Montana State Coll. Agric. Sta., Circular No. 169*, 1943, 2.

Ricevuto il 28 giugno 1952.

STAZIONE SPERIMENTALE DI GELSICOLTURA E BACHICOLTURA
(Direttore: P. Lorenza Lombardi)
ASCOLI PICENO

ALESSANDRO VENEROSO

FILATURA DEI BOZZOLI DEL BACO DA SETA CON CRISALIDE VIVA

Il problema della filatura dei bozzoli con crisalide viva è di primaria importanza, quando si vuole procedere alla selezione di ceppi in base al carattere della lunghezza della bava serica.

È noto che in una partita di bozzoli scelti per uniformità di colore ed altri caratteri morfologici, filando separatamente un numero più o meno grande di bozzoli, non si ottengono bave seriche della medesima lunghezza, ma valori che oscillano tra un massimo di 1200 metri ed un minimo di 600 metri di filo serico. Carattere, questo, variabile da individuo ad individuo.

Mentre per altri caratteri (colore, forma e grandezza del bozzolo) si è riusciti ad ottenere ceppi puri, il carattere della lunghezza della bava dipanabile è stato sempre trascurato per il fatto che il bozzolo filato dopo essiccazione non permetteva di utilizzare la crisalide per il lavoro selettivo.

S'impone perciò, per potere tentare una siffatta selezione, la filatura dei bozzoli a fresco, che permetta contemporaneamente di calcolare con esattezza la lunghezza della bava serica e non danneggi la vitalità della crisalide, in modo che questa possa trasformarsi normalmente in insetto perfetto e completare il suo ciclo vitale.

È chiaro che un maltrattamento alla crisalide provocherebbe una sensibile alterazione nella metamorfosi che questa deve subire, specie se si pensa ch'essa attraversa un periodo d'intenso metabolismo cellulare per l'atrofizzazione di alcuni organi e lo sviluppo di altri, con particolare riguardo allo sviluppo degli organi sessuali.

Mi dedicai a tale studio sin da quando la prof. P. L. Lombardi, che dirige questa Stazione, iniziò il lavoro di selezione di alcune razze di *Bombyx mori*, in rapporto al carattere della lunghezza della bava serica.

Per quanto abbia consultato la relativa bibliografia, non mi è stato possibile rilevare alcun metodo specifico. Diversi autori si sono invece

interessati della filatura a freddo dei bozzoli secchi ed anche questo problema non è stato ancora risolto per diverse difficoltà tecniche.

Per consiglio del prof. Colombo, cercai di usare in un primo tempo una soluzione a diversa concentrazione di cloridrato di pepsina, per la proprietà che questa ha di agire sulle sostanze proteiche per trasformarle in peptoni più solubili. La sericina, quale sostanza proteica, avrebbe potuto sentire l'azione della pepsina e sciogliersi, permettendo il dipanamento del bozzolo. Nessuna delle soluzioni preparate rispose allo scopo prefissomi, perchè il filo serico durante lo svolgimento subìva numerose rotture e richiedeva un lavoro lungo e paziente. Si riusciva a filare in un giorno lavorativo pochissimi bozzoli. In quanto alla vitalità, la crisalide non risentiva alcun danno, perchè si trasformava regolarmente in farfalla e sia l'accoppiamento che la deposizione delle uova avvenivano normalmente.

Nel campo pratico tale metodo non rispondeva, come ho detto, per il lungo tempo che richiedeva la filatura di ogni singolo bozzolo, a prescindere dal fatto che tutti i giorni doveva rinnovarsi la soluzione che con molta facilità si alterava.

Non è possibile selezionare una razza limitandosi a poche ovature. Se si desidera ottenere risultati attendibili, è necessario avere a disposizione molto materiale da selezionare ed in un periodo di tempo relativamente breve, e precisamente dal ritiro dei bozzoli allo sfarfallamento di essi.

Pensai quindi di studiare qualche altra soluzione che avrebbe potuto rispondere allo scopo prefissomi.

È noto che con le acque fortemente alcaline i bozzoli si possono filare a freddo con la massima facilità, dando bavelle elementari perfettamente sgommate e completamente indipendenti l'una dall'altra per il fatto che la sericina non si rammollisce, ma in massima parte si altera per azione dei sali alcalini. Per il mio scopo specifico non interessava l'eventuale alterabilità della fibra serica nelle sue qualità dinamometriche, ma interessava conoscere semplicemente la lunghezza della bava dipanabile; avrei potuto fare uso di dette acque, ma ho dovuto del pari eliminarle per non danneggiare la crisalide viva, che doveva completare il suo ciclo evolutivo per un eventuale accoppiamento e la deposizione delle uova.

Ho provato ad aggiungere all'acqua fredda di filatura il solforicinato d'ammonio per il suo potere emolliente e schiumogeno. Ho ottenuto una filatura regolare a freddo con danno della crisalide viva, perchè questa veniva rivestita di uno strato di grasso e, per la chiusura degli stimmi, moriva per asfissia.

Dopo ripetute prove ho ottenuto un buon risultato usando per la trattura acqua distillata contenente disciolto il quattro per mille di metasilicato sodico.

La soluzione leggermente alcalina non solo non danneggia la crisalide, ma permette di filare il bozzolo in poco tempo. Eseguendo la filatura di ogni singolo bozzolo con aspino Aquati, munito di contagiri, con indice girevole su apposito quadrante, si è in grado di stabilire con esattezza la lunghezza della bava serica ottenuta da ogni bozzolo.

Prove sperimentali, ripetute per diversi anni, mi hanno permesso di dedurre che la crisalide non subisce con tale metodo un forte maltrattamento.

Le crisalidi, ottenute dalla filatura, vengono messe numerate in appositi isolatori per permetterne la metamorfosi a farfalla. Dopo il normale accoppiamento, le farfalle femmine vengono messe in celle per la deposizione delle uova. Il seme deposto, selezionato al microscopio per l'immunità da pebrina, subisce il regolare periodo di estivazione e di ibernazione in modo perfettamente analogo a tutto il seme preparato in questa Stazione per le varie prove sperimentali. All'incubazione si ottengono nascite complete e l'allevamento dà prodotti normali.

Avendo ottenuto, come ripeto, per diversi anni ottimi risultati, ho creduto opportuno rendere pubblico il metodo.

È da notare che il metodo stesso risponde per i vari tipi di bozzoli sia di razza « Gialla », che « Oro » o « Bianca ».

RIASSUNTO

Una soluzione di acqua distillata contenente il quattro per mille di metasilicato sodico, mantenuta a temperatura normale, permette di filare i bozzoli a fresco senza danneggiare la vitalità delle crisalidi, e di conoscere con esattezza la lunghezza del filo serico dipanabile di ogni singolo bozzolo.

Tale metodo è consigliabile quando si desidera operare una selezione dei vari individui in base al carattere « lunghezza della bava serica » e viene adottato da diversi anni presso la Stazione di Ascoli Piceno con risultati positivi.

SUMMARY

WINDING OF SILK WORM COCOONS WITH LIVING CHRYSALIS

by ALESSANDRO VENEROSO

A solution of distilled water, containing 4 ‰ sodium metasilicate, maintained at a normal temperature, permits the winding of the cocoons without damaging the vitality of the chrysalis, and makes it possible to know with exactness the length of the silk thread which can be wound from each single cocoon.

This method is advisable when it is desired to work a selection of various individuals on the basis of the 'length of silk thread' character and has been adopted for many years at the Stazione di Gelsicoltura e Bachicoltura at Ascoli Piceno with positive results.

Ricevuto il 28 giugno 1952

STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Cesare Sibilia)
ROMA

ANTONIO CICCARONE

ACERVULI "STELLATI" IN *GLOEOSPORIUM OLIVARUM* ALM.

Qualche anno fa, nell'osservare l'andamento di inoculazioni artificiali di *Gloeosporium olivarum* Alm. su drupe d'olivo (*Olea europaea* L.) e su altre matrici, fu possibile allo scrivente (Ciccarone, 1950, pp. 144-145) notare — insieme con le solite pustole « a cuscinetto » ed informi, di tonalità rosea, marroncina o gialliccia, date dalla massa cerosa dei conidi (fig. 2) — acervuli crateriformi, contenenti un assai minor volume di conidi sullo stroma prolifero e singolarmente circondati da sinnemi radianti (figg. 1 e 4), bianchi ad occhio nudo, ma all'osservazione microscopica rivelantisi costituiti da molteplici e fitte serie di ife castanee (fig. 10), vuote di plasma, settate, di μ 2-2,5 di larghezza e lunghe fino a μ 200 ed oltre, flessuose, non rigide come le sete del gruppo: *Gloeosporium-Colletotrichum* (Potebnia, 1910), nè frammiste ai conidiofori. Esse sono anche di solito spezzate all'estremità distale.

Osservando lo sviluppo di *G. olivarum* in olive inoculate con lo stesso ceppo del fungo, ma tenute in differenti condizioni ambientali, se ne concluse che il suo *habitus* può variare largamente in rapporto all'ambiente e che, nonostante forme di passaggio dagli acervuli « stellati » ai comuni stromi proliferi « a cuscinetto » si possano incontrare su una stessa drupa, anche tale variazione è nelle linee generali in rapporto con le condizioni edafiche e di ambiente in cui si trova il fungo.

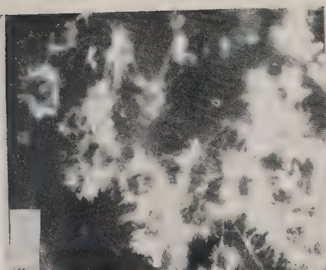
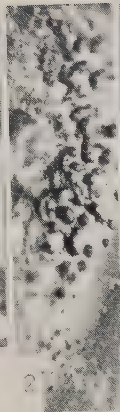
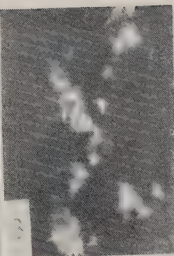
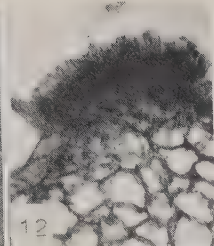
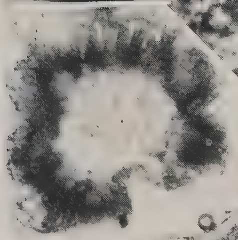
Si seguì a tal fine lo sviluppo degli acervuli, imparaffinando parti di drupe, inoculate con colture monoconidiche e tenute in condizioni ambientali diverse di temperatura (10°-13°,5 C - 20°23°,5 C) e di umidità *.

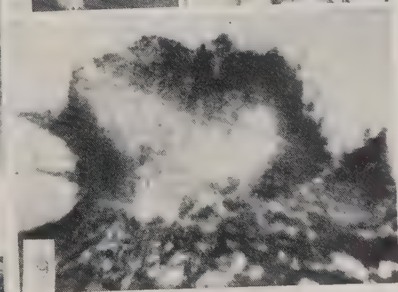
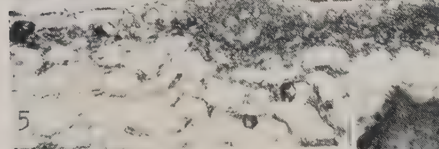
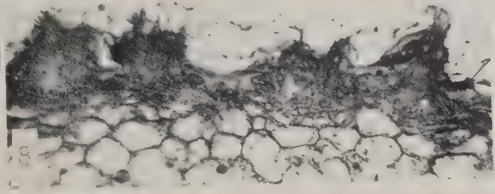
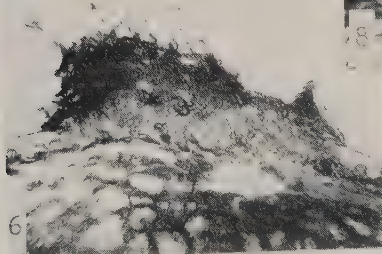
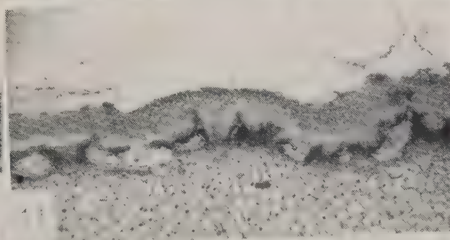
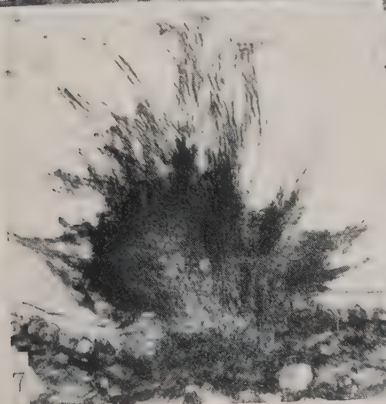
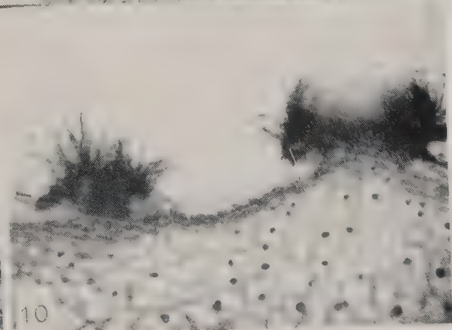
* A tal proposito, qualche giorno dopo le inoculazioni, si scoperchiarono alcune scatole Petri in cui si trovavano olive inoculate.

Si vide così che gli stromi si differenziano dentro le cellule dell'epicarpo con una struttura paraplectenchimatica, quasi *textura intricata*. indefinita e lassa. Sviluppandosi però, essi sollevano la cuticola, rompendo le pareti radiali delle cellule affette (fig. 8). A tal fine, essi si organizzano in un prosoplectenchima, quasi « columella », di ife intensamente castanee, settate, subparallele ed orientate normalmente alla cuticola, il cui spessore oscilla intorno ai μ 15. Se l'atmosfera è satura d'umidità e calda, la cuticola si solleva e, molle com'è, lascia emergere prontamente lo stroma che conidifica subito; ma, quando lo sviluppo del fungo è meno vigoroso, essa presenta per qualche tempo solo sottili crepe (fig. 5) nelle quali le ife del fungo, che non rivelano attività enzimatiche evidenti, si inseriscono, dilatandole e raggiungendo poi l'esterno. La cuticola si spezzetta così disordinatamente. Ed il fungo, via via inserendosi nelle nuove fessure obliquamente radiali o subtangenziali, erompe lentamente (figg. 6 e 8). Gli stromi erotti si presentano superiormente fimbriati o sfioccati (fig. 3) per le ife orientate in ogni senso, ma tendenzialmente centrifughe (figg. 7 e 10) che per prime, attraverso le sopraddette fessure, erano emerse all'esterno. Non essendo più contrastati nell'accrescimento, essi stromi tendono anche ad espandersi, al di sopra del denso prosoplectenchima già menzionato — quasi piede del futuro acervulo —, in un ammasso micelico subgloboso, compatto ed intensamente castaneo. Nel mezzo di questo, si differenziano i primordi delle cavità prolifere che si presentano dapprima come *foci*

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

1: acervuli « stellati » su drupa di olivo inoculata il giorno 1–II–1952 e tenuta a 13° C. Fotografia eseguita il 12–II–1952; × 9,5 diam. – 2: acervuli « a cuscinetto » su drupa di olivo inoculata il giorno 7–XII–1952 e tenuta a 23,5° C; in basso sono visibili gocciole conidiche fuoriescenti da acervuli appena erotti (confrontare con la fotografia seguente). Fotografia eseguita il 12–II- 1952. × 6 diam. – 3: inizi di acervuli « stellati » [come in 1] ecompenti dall'epicarpo. × 9,5 diam. – 4: acervulo « stellato » maturo incluso in blu lattico. L'acevulo è appena schiacciato. × 70–75 diam. – 5: inizio di stroma [come in 1] che erompe all'esterno con un primo ciuffo di filamenti vegetativi. Sezione di drupa di olivo imparaffinata e colorata con emallume di Stass–Mayer – safranina – acido picrico – ammoniaca. × 140 diam. circa.– 6: stroma in eruzione, che ha superato la cuticola, i cui pezzi, ancora identificabili, sono inclusi nell'ammasso micelico; lo stroma è rivestito di ife sparse [metodo come in 5]. × 120 diam. circa. – 7: giovane stroma erotto e fimbriato [metodo come in 5]. × 180 diam. circa. – 8: giovani stromi erompenti e fimbriati [metodo come in 5]. × 120 diam. circa. – 9: stroma in cui la differenziazione delle cavità prolifere è avanzata ed è visibile un'irregolare « linea di scissura » [metodo come in 5]. × 165 diam. circa. – 10: acervulo « stellato » maturo (a destra) e giovane stroma fimbriato (a sinistra) [metodo come in 5]. × 65 diam. circa. – 11: acervuli « a cuscinetto » coperti da masse conidiche continue e cerose; è visibile la forma substipitata degli acervuli [metodo come in 5]. × 33 diam. circa. – 12: acervulo piatto senza conidi [metodo come in 5]. × 130 diam. circa.



2

3

12



9

5

8

6

11

7

10

subsferici di riassorbimento della massa micelica fondamentale, poi come « zone meristematiche » estese lateralmente, ma sullo stesso piano a tutto lo stroma (fig. 9). In corrispondenza della irregolare « linea di scissura » così originata e a seguito della pressione esercitata dai conidi che si vanno formando, si ha l'apertura dell'acervulo. La metà inferiore dello stroma prolifero difatti rimane scoperta a mo' di coppa e circondata dalle ife che da essa si irradiano all'ingiro (fig. 10).

Se la cuticola ha ceduto facilmente e completamente — come avviene con temperature vicine all'*optimum* (che si trova sui 20° C) e con alta umidità atmosferica — lo stroma è assai meno forte, la differenziazione di filamenti inserentisi nella cuticola è minore e la conidificazione abbondante. L'acervulo assume allora il ben noto aspetto di cuscinetto informe e ceroso.

In condizioni meno favorevoli, invece, si ha un più forte stroma fimbriato ed una massa conidica pallida e depressa, delimitata perifericamente dalle ife radianti abbondantemente differenziatesi.

Pur non potendosi, come si è detto inizialmente, pervenire a rigide discriminazioni al riguardo, sembra dunque che il particolare aspetto degli acervuli « stellati » sia conseguenza di diversi ordini di fatti estrinseci, tra i quali prevarrebbero la resistenza meccanica della cuticola e condizioni ambientali sfavorevoli al vigoroso sviluppo del fungo ed al rigonfiamento della massa conidica.

Anche la minore affinità fra ospite e parassita (osservata per esempio in inoculazioni su limone) sembra indurre acervuli di questo tipo.

Tali osservazioni paiono di un certo interesse generale, perchè portano ancora una volta a considerare con prudenza le variazioni morfologiche degli stromi delle *Melanconiaceae* ed in particolare la presenza di appendici, sete, pelosità, che pure sono talora di valido aiuto al sistematico in questo e negli altri ordini di forme imperfette (*Trichosćeptoria* Cav., *Chaetophoma* Cooke, ecc.).

RIASSUNTO

Viene seguìta la formazione degli acervuli di *Gloeosporium olivarum* Alm. onde mettere in chiaro le cause ed il meccanismo di differenziazione di acervuli « stellati » che, in determinate condizioni edafiche ed ambientali (soprattutto temperatura ed umidità), il fungo presenta.

SUMMARY

'STELLATE' ACERVULI IN *GLOEOSPORIUM OLIVARUM* ALM.

by ANTONIO CICCARONE

The author follows the ways of differentiation and of eruption of the acervuli of *Gloeosporium olivarum* Alm. in order to clear up the causes and the mechanism originating the stellate' acervuli shown by the fungus under some edaphic and environmental conditions (low temperature and humidity), which do not allow it to grow vigorously.

LAVORI CITATI

CICCARONE, A. Considerazioni biologiche e sistematiche sull'agente della «lebbra» delle olive, recentemente osservata nel Leccese. *Boll. Staz. Pat. veg.*, 1950, serie III, V (1947), 143-165.

POTEBNIA, A. Beiträge zur Micromycetenflora Mittel-Russlands. *Ann. Mycol.*, 1910, VIII, 74-86.

SHEAR, C. L.. and DODGE, B. O. The life history and identity of *Patellina fragariae*, *Leptothyrium macrothecium* and *Peziza oenotherae*. *Mycologia*, 1921, XIII, 135-170.

Ricevuto il 4 luglio 1952.

LABORATORIO SPERIMENTALE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Gabriele Goidànich)
BOLOGNA

ALBERTO MEZZETTI

OSSERVAZIONI SU DI UNA MACULATURA BRUNA INTERNA DEI TUBERI DI PATATA MANIFESTATASI NEL 1950 E NEL 1951 IN EMILIA

Premessa

Nel 1950 e 1951 ebbi occasione di studiare alcuni « casi » di una maculatura interna dei tuberi di patata, verificatasi in Emilia, che per i suoi caratteri si avvicina ad alcune sindromi già conosciute ed attribuite a varie cause. Per quanto non sia ancora giunto ad una diagnosi sicura, ho raccolto elementi di giudizio che ritengo utili esporre qui, perchè possano servire agli altri fitopatologi che si stanno occupando del fenomeno, che, a quanto è stato riferito, si è manifestato anche in altre regioni.

Ringrazio il locale Consorzio agrario provinciale (ed in particolare il dott. Leone Grillenzoni, il signor Bruno Cenni, il perito agrario Luigi Scagliarini), che mi ha concesso ospitalità per queste prove in un suo campo d'orientamento, ha messo a mia disposizione i suoi dati agronomici e mi ha aiutato con personale e mezzi nell'esecuzione dei rilievi fitopatologici.

Casi osservati

Nel 1950:

1) In una azienda agraria di Lorenzatico di S. Giovanni in Persiceto (Bologna). Terreno fresco, semina superficiale. Secondo il conduttore, la varietà « Majestic » ha dato l'80 % di tuberi maculati; un'altra varietà non precisata ha prodotto tuberi tutti sani. Macchie disposte nella zona della cerchia vascolare (vedi sotto).

2) Varie aziende agrarie a Castel d'Aiano (Bologna). Varietà « Majestic ». Nella partita di tuberi si notavano anche malformazioni (vedi sotto). La maculatura era più accentuata nei tuberi grossi e nei tuberi malformati.

3) In una azienda agraria di Altedo (Bologna). Varietà « Majestic ». Macchie generalmente prossime alla corona del tubero. I tuberi maculati erano spesso malformati ed avevano zone di polpa anormalmente diafane.

4) In un magazzino di Forlì. Varietà non precisata.

La presenza di una maculatura di questo tipo mi è stata segnalata inoltre a Loiano (Bologna) su « Majestic » di varie provenienze.

Nel 1951:

1) In un campo orientativo per la coltura della patata istituito dal CAPB presso S. Pietro in Casale (Bologna). Terreno argilloso compatto. Sono state colpite parecchie varietà con varia intensità (vedi sotto). Presenti nel prodotto anche malformazioni e altre anomalie (vedi sotto).

2) In una parcella sperimentale ottenuta seminando tuberi « Majestic » di alcune delle partite maculate esaminate nel 1950, costituita da una fila di piante lungo un margine del campo orientativo di cui sopra. La maculatura si è riprodotta nei tuberi figli, che presentavano anche frequenti malformazioni. La maculatura era più frequente nei tuberi grossi (vedi sotto).

Dal confronto dei vari « casi » ho tratto la convinzione che essi debbano esser classificati globalmente — o, quanto meno, per la loro parte sostanziale — in una entità patologica unica, alla quale qui sotto mi riferisco.

Descrizione della sindrome

Il sintomo più caratteristico, e forse l'unico, dell'alterazione era costituito da nuclei bruni, presenti nella polpa dei tuberi, che in sezione apparivano come macchie generalmente isodiametriche, per quanto spesso di forma irregolare, talora apparentemente confluenti, di vario diametro — da frazioni di millimetro fino a più di un centimetro —, a contorno ora abbastanza definito, ora indefinito (figg. 1 e 2).

Il tono del loro colore era rugginoso, generalmente più chiaro in alcune varietà a polpa bianca (per esempio « Majestic »), più scuro in alcune varietà a polpa gialla (per esempio « Oberanbacher », « Concordia », « Stamm 335 ») e vario nella « Bona ». L'intensità del loro colore era varia anche nello stesso tubero: accanto a macchie assai marcate si potevano trovare leggere sfumature brune, quasi impercettibili. Quando le macchie scure erano localizzate nella zona midollare del tubero si notava talora attorno ad esse una diafanizzazione della polpa più accentuata del normale (figg. 2, 3 e 4).

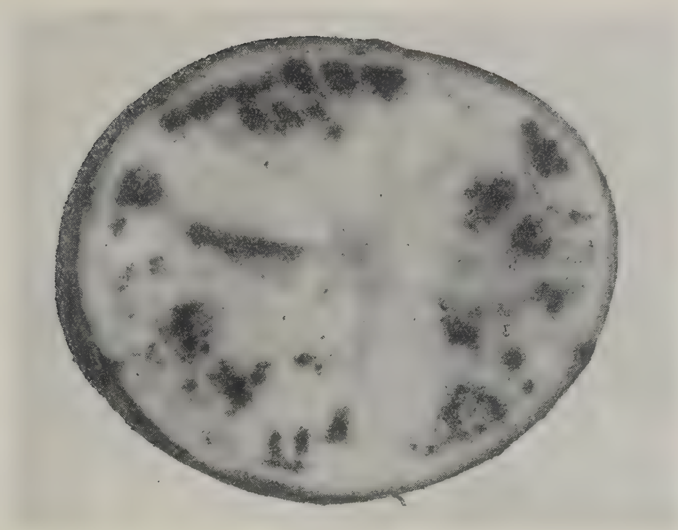


Fig. 1. – Sezione trasversale di tuberi « Majestic » con gravi lesioni di maculatura bruna interna. Una buona parte delle macchie è situata nella zona della cerchia vascolare. L'anello vascolare è leggermente imbrunito.

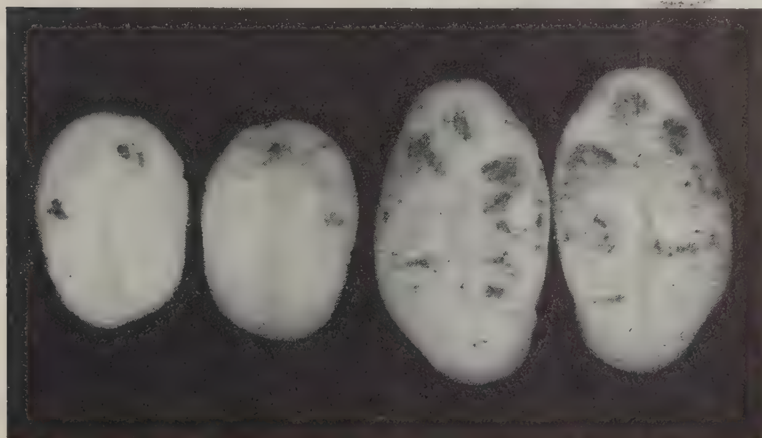


Fig. 2. – Sezioni longitudinali di tuberi « Majestic » con lesioni di maculatura bruna interna. I nuclei di tessuto necrotico sono circondati da zone di polpa diafana. L'estremità ombelicale dei tuberi è sana.

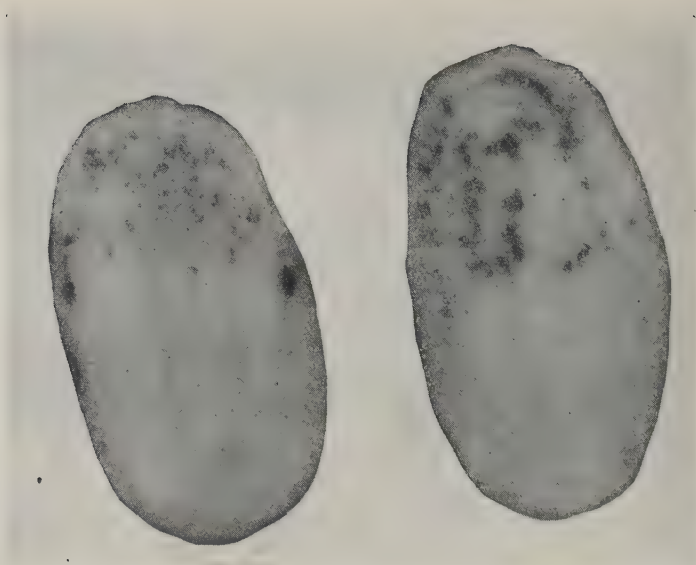


FIG. 3. – Sezione longitudinale di un tubero « Majestic » con lesioni di maculatura bruna interna. I nuclei di tessuto necrotico sono circondati da zone di polpa diafana. La metà prossimale del tubero è sana.

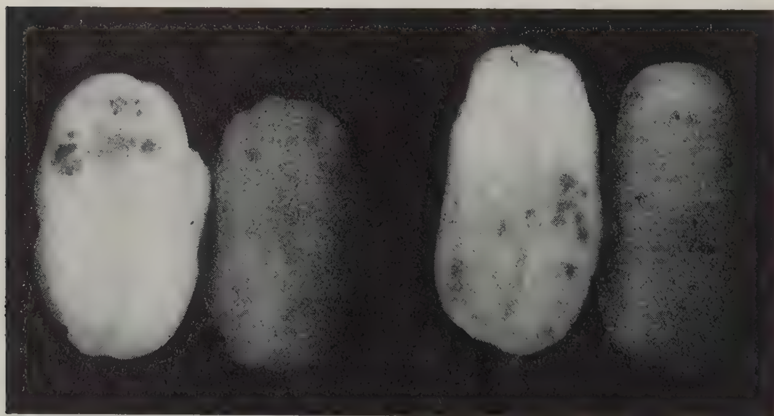


FIG. 4 – Tuberi « Oberanbacher » con lesioni di maculatura bruna interna. I nuclei di tessuto necrotico sono circondati da zone di polpa diafana.
Nel tubero di sinistra essi sono localizzati all'apice; nel tubero di destra principalmente verso la metà, verosimilmente perchè la parte superiore di tale tubero (« prolungamento ») si è formata dopo le lesioni. Notare la corrispondenza nel tubero di sinistra fra le necrosi interne e le screpolature della buccia.

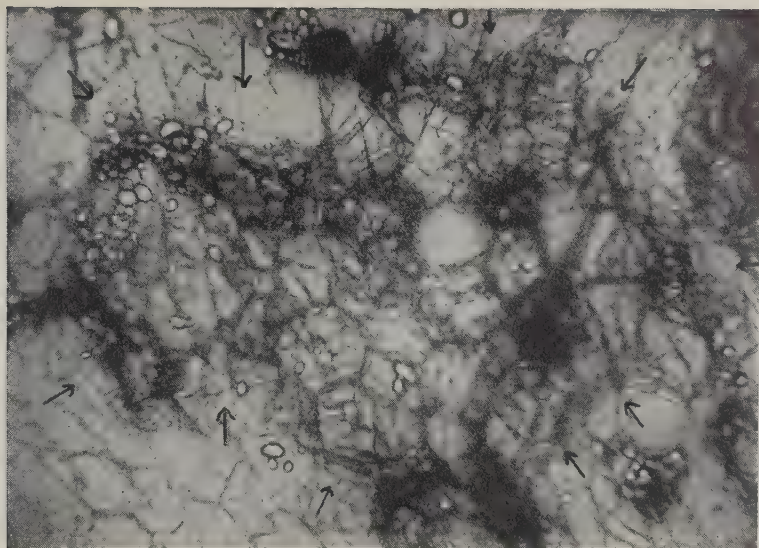


FIG. 5. – Visione microscopica della polpa di un tubero in corrispondenza di un piccolo nucleo necrotico, ricavata da uno dei tuberi rappresentati nella fig. 6. Le frecce indicano i limiti approssimativi della barriera suberosa che circonda i gruppetti di cellule morte. Sezione a mano, colorata con blu cotone e Sudan III, montata in lattofenolo 58 ×.

Il tessuto di cui le isole brune erano costituite appariva sugoso e compatto come quello sano, anche dopo un lungo periodo di conservazione in locale asciutto.

L'esame istologico ha dimostrato che le isole brune erano insediate esclusivamente nel parenchima fondamentale del tubero ed erano generalmente costituite di piccolissimi nuclei, ognuno formato di una o poche cellule parenchimatiche, dalla parete leggermente imbrunita, dal lume spesso piccolo e talora collassato, piene di amido, e da una zona di cellule generalmente vuote di contenuto e dalle membrane suberizzate che circondava i nuclei necrotici. Le cellule di questa zona portavano spesso le tracce di una segmentazione secondaria, cosicchè la sua struttura in qualche punto si avvicinava a quella di un periderma da ferita. Le isole brune di una dimensione apprezzabile erano formate dalla confluenza di numerosi elementi semplici del tipo sopra descritto. La zona circostante alle macchie era povera o del tutto priva di amido (fig. 5).

Anche la posizione delle macchie aveva poche caratteristiche salienti. In sezione trasversale esse sono state riscontrate in una partita di tuberi alterati esclusivamente alla periferia del tubero stesso, nella zona del-

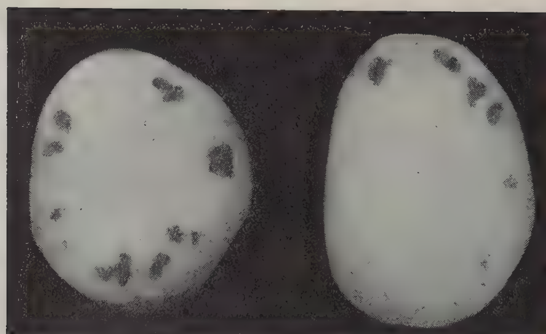


Fig. 6. – Sezioni trasversali di tuberi «Majestic» con maculatura bruna interna localizzata nella zona dei fasci.

l'anello vascolare (fig. 6), senza che esse avessero tuttavia rapporti costanti coll'anello vascolare stesso, ciò che è stato confermato dai reperti istologici; negli altri casi esse erano sparse senza regola in tutta la sezione trasversale stessa (fig. 1). In sezione longitudinale invece esse spesso dimostravano una notevole tendenza ad accumularsi verso il polo gemmifero (figg. 2 e 3), come vien dimostrato dalla statistica riportata nella tabella I, effettuata su un numero abbastanza notevole di tuberi di varie varietà.

Tabella I

Rilievi statistici sulla distribuzione delle macchie in una sezione longitudinale mediana dei tuberi
S. Pietro in Casale (Bologna), 29.IX.1951

Parcella n. *	Varietà	Nella metà prossimale		Sparse		Nella metà distale		All'apice della parte basale di tuberi prolungati		Totale tuberi maculati distalmente	Totale dei tuberi maculati	
		Tuberi n.	%	Tuberi n.	%	Tuberi n.	%	Tuberi n.	%	%	Tuberi n.	%
4	«Majestic»	1	7	6	40	8	53	0	0	53	15	100
5	»	1	7	5	36	8	57	5	0	57	14	100
6	»	0	0	8	44	8	44	2	12	56	18	100
13	«Stamm 335»	2	5	18	49	17	46	?	?	46	37	100
15	«Bona»	2	8	6	23	17	65	1	4	69	26	100
16	»	0	0	6	35	11	64	0	0	64	17	100
17	»	0	0	4	15	21	78	2	7	85	27	100
29	«Oberanbacher frühe»	2	4	26	40	36	56	?	?	56	64	100

* Vedi tabella II e fig. 12.

Le osservazioni sono state eseguite su tuberi dimezzati secondo la superficie di taglio massima. Sono stati classificati come maculati solo i tuberi con segni indubbi dell'alterazione.

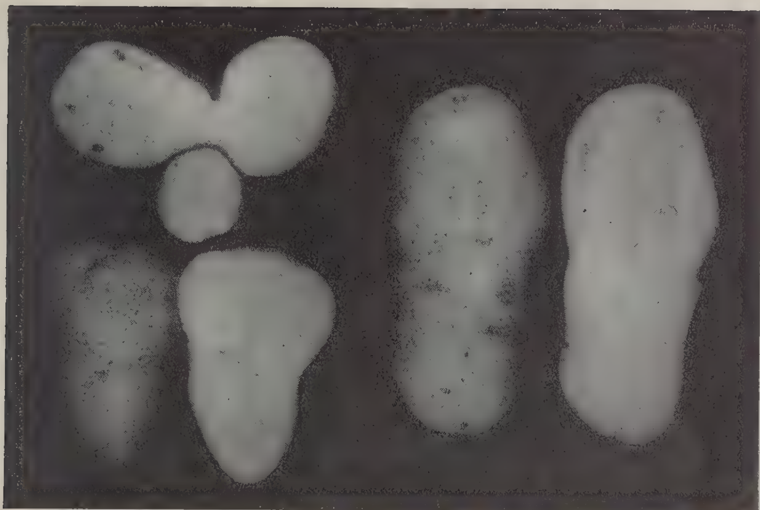


Fig. 7. – Tuberi « Majestic » nei quali la maculatura bruna interna è associata a malformazioni (« figliolini » e « prolungamenti »).

Le isole di tessuto necrotico non avevano mai alcun rapporto colla buccia, cosicchè i tuberi alterati apparivano all'esterno assolutamente indenni (figg. 7, 8, 9 e 11).

Ho più volte osservato che i tuberi grossi erano più frequentemente maculati di quelli piccoli, per quanto abbia trovato l'alterazione anche in tuberi di 2 centimetri di diametro circa.

Per quanto la maculatura sia stata trovata quest'anno (1951) qualche volta anche in tuberi dalla polpa anormalmente molle, sezionando un gran numero di patate ne ricavai l'impressione che la grande maggioranza dei tuberi maculati — almeno di quelli che furono raccolti dopo il 6.IX nel campo orientativo del CAPB a S. Pietro in Casale (Bologna) — avessero una resistenza al taglio alquanto elevata e polpa assai soda e croccante, pari a quella dei tuberi sani più turgidi della stessa partita. Non feci tuttavia osservazioni precise al riguardo. Per giustificare questo fatto non è sufficiente invocare una maggiore constenza dei tessuti alterati, in quanto l'elevata consistenza della polpa si poteva osservare anche in tuberi con lieve imbrunimento, mentre, come ho detto sopra, qualche volta tuberi fortemente maculati erano leggermente avvizziti e molli al taglio.

Quanto all'epoca di comparsa della maculatura interna, posso affermare per mia constatazione personale che essa era presente alla matura-

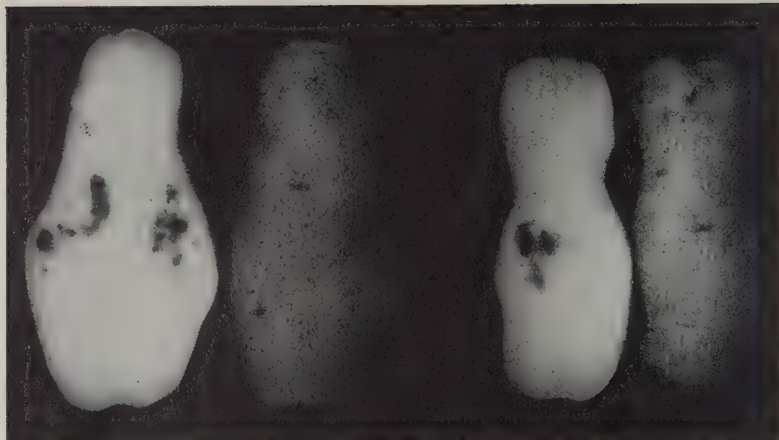


FIG. 8. – Tuberi « Oberanbacher » nei quali la maculatura bruna interna è associata a « prolungamenti » e a screpolature della buccia. Le necrosi sono localizzate all'apice della parte basale dei tuberi. Esse si sono verosimilmente verificate prima della ripresa di crescita che ha dato luogo ai « prolungamenti ».

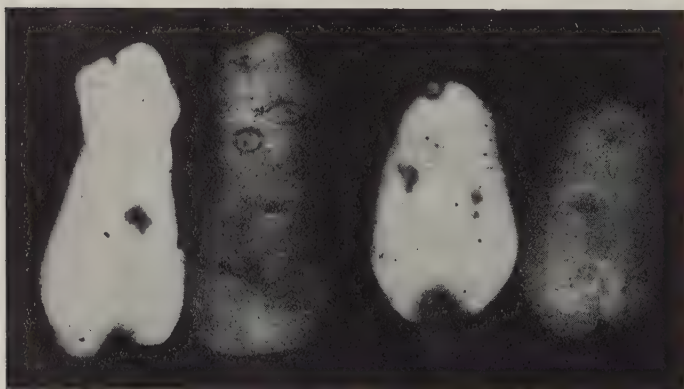


FIG. 9. – Tuberi « Oberanbacher » nei quali la maculatura bruna interna è associata a « prolungamento », « occhi prominenti », « decadimento e marciume ombelicale » e screpolature della buccia. Le necrosi sono situate all'apice della parte basale dei tuberi. Esse si sono verosimilmente verificate prima della ripresa di crescita che ha dato luogo alle altre manifestazioni patologiche.

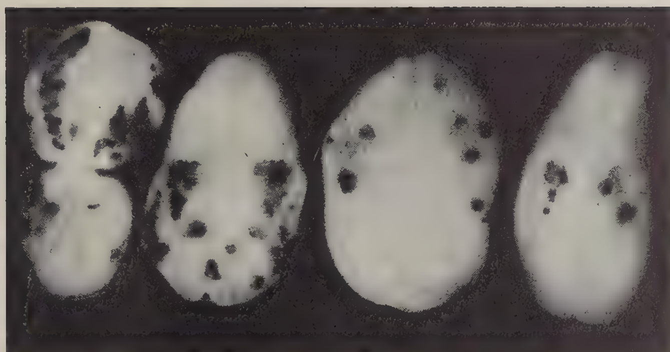


Fig. 10. – Tuberi « Oberanbacher » con maculatura bruna interna. Nel primo, secondo e quarto tubero (da sinistra) anche « prolungamenti ». Nel secondo e quarto tubero le necrosi si sono verosimilmente verificate prima della ripresa di crescita che ha dato luogo ai « prolungamenti »; nel primo tubero anche dopo di essa.

zione; infatti le percentuali di maculatura denunciate nella tabella III per il prodotto della nota parcella di « Majestic » ottenuta da semente macchiata furono desunte da osservazioni fatte sui tuberi appena raccolti, a maturità, il 13 e il 21.IX.51 (la parcella era stata seminata tardi, il 18.IV). Ma i tecnici del CAPB l'hanno osservata anche su tuberi tolti dal terreno prematuramente.

Già nel 1950 avevo osservato — come è già stato accennato in precedenza — che taluni dei tuberi maculati erano malformati; non avevo peraltro prestato molta attenzione a tale corrispondenza. Nel 1951 ho osservato i due fatti su vasta scala nel campo di orientamento di S. Pietro in Casale (Bologna). I tuberi in esso prodotti — specialmente quelli delle



Fig. 11. – Tuberi « Majestic » con maculatura bruna interna associata con « prolungamenti » e screpolature della buccia. Verosimilmente in essi le necrosi della polpa e l'arresto di sviluppo della buccia, che ha prodotto le screpolature, hanno preceduto la ripresa di crescita che ha dato luogo ai « prolungamenti ».

varietà « Allerfrüheste Gelbe », « Majestic », « Bona », « Ackersegen », « Bintje », « Sieglinde » — presentavano frequentissime ed accentuate anomalie dei seguenti tipi: « occhi prominenti », « prolungamenti », « figliolini », « tuberi in catena », « spaccature di crescita », « germogliazione prematura », « avvizzimento » principalmente « ombelicale », « diafanizzazione della polpa », « marciume ombelicale » (cfr. 21). È da notarsi che dette anomalie erano presenti indifferentemente nel prodotto di sementi di varia provenienza della stessa varietà.

In alcune varietà erano presenti solo le malformazioni, nell'« Allerfrüheste Gelbe » in misura invero assai accentuata; in altre, specie « Majestic » e « Bona », anche la maculatura (figg. 7 e 11) e non erano rari i tuberi che presentavano contemporaneamente un particolare tipo di malformazione, il « prolungamento », e la maculatura (figg. 7 e 11). In essi le macchie avevano spesso una posizione abbastanza caratteristica e cioè all'apice della parte basale del tubero stesso (figg. 4, a destra, 8, 9, 10 a destra), ciò che mi ha suggerito l'idea che le macchie brune potessero essere correlate colle malformazioni; questo fatto è espresso statisticamente in una finca della tabella I.

In ripetuti esami effettuati durante il ciclo vegetativo non sono riuscito a rilevare alcun sintomo definito di malattia sul fogliame delle piante di varietà « Majestic » di provenienze varie, della parcella sperimentale nel campo di orientamento di S. Pietro in Casale, piante che hanno prodotto una certa percentuale di tuberi maculati (vedi più avanti). Se ne deve concludere che, se la malattia ha manifestazioni sul fogliame, esse sono assai poco appariscenti.

Il campo di orientamento di S. Pietro in Casale mi ha fornito una larga messe di osservazioni sul comportamento delle varie varietà e delle varie provenienze di una stessa varietà nei confronti della sindrome in questione, osservazioni che sono esposte nella tabella II. Purtroppo sfuggì all'esame il prodotto delle varietà più precoci, che furono estirpate per prime e subito vendute: « Sieglinde », « Bintje », « Sommerkrone », « Asches Frühperle », « Frühgold ». Sembra che in esse la maculatura bruna non fosse presente. La prima deduzione ricavata da tale esame è che l'« Allerfrüheste Gelbe », per tutte e quattro le sue provenienze, l'« Asches Fortuna » e l'« Olympia » sembrano esser rimaste completamente immuni dalla maculatura. Le percentuali di maculatura bruna interna non hanno alcuna correlazione apparente colla produzione unitaria nè coll'intensità delle anomalie del fogliame; ciò che va d'accordo coll'apparente mancanza di sintomi constatata sulle piante di varietà « Majestic » della parcella sperimentale di cui sopra, che non è stata inclusa nella tabella.

TABELLA II

)sservazioni compiute nel 1951 nel campo di orientamento per la oltura della patata a S. Pietro in Casale sul comportamento di varie varietà nei confronti della maculatura bruna interna

Parcella			Vegetazione al 10.VII			Data della raccolta	Produzione		Tuberi maculati %
Varietà	Semente		Sviluppo	Fallanze	Alterazione del fogliame **		Q.li per ettaro	Q.li per Q.le di semente	
	Provenienza	Qualifica							
« Majestic »	Svezia	Originale A	++	—	+	18. IX	206	8,9	20
»	Bressan.	Riprodotta	++	+	+++	18. IX	267	9,2	9
»	Brunico	»	++	—	++	19. IX	233	10,6	15
»	Inghilterra	Iees	++/+++	—	+	20. IX	271	9,5	14
»	Sila	Riprodotta	++	—	++	14. IX	259	12,3	17
« Toni »	Germania	Hochzucht	-- ---	—	—	12. IX	211	14,[illegible]	5
« Stamm 335 »	Germania	»	++/+++	+	—	13, IX	194	10,5	37
« Bona »	Brunico	Riprodotta	++	—	++	22. IX	200	10,5	26
»	Germania	Hochzucht	+++	—	+	22. IX	225	12,3	16
»	Fucino	Riprodotta	+/+++	+	++++	21. IX	133	7,7	25
« Allerfrüheste Gelbe »	Germania	Hochzucht	++/+++	++	—	15. IX	348	17,8	—
» »	Sila	Riprodotta	++/+++	+	++	15. IX	286	18,2	—
« Olympia »	Germania	Hochzucht	+++	—	—	11. X	205	10,7	—
« Ackersegen »	Germania	»	++/+++	—	+	13. X	134	7,9	3
»	Austria	Elite	++	+	+	9. XI	312	15,5	—
« Vera »	Germania	Hochzucht	+/++	+	—	9. XI	262	15,5	15
« Asches Fortuna » . .	»	»	+++	—	—	8. X	207	11,1	—
« Concordia PSG » . .	»	»	+/++	+	—	7. IX	230	12,7	7
« Erdgold PSG » . . .	»	»	+++	—	+	26. IX	227	18,8	11
« Wiga »	»	»	++/+++	+	+	6. IX	268	16,0	4
« Oberanbacher » . . .	»	»	+/++	—	+	6. IX	245	14,3	55
« Allerfrüheste Gelbe »	Bressan.	Riprodotta	+/+++	++	++++	23. IX	219	11,2	—

* Vedi fig. 12.
** Di presumibile origine virotica.

Gli apprezzamenti riguardanti la vegetazione hanno valore puramente relativo: più che l'altezza la vegetazione è stata considerata la sua densità e il suo aspetto più o meno florido. +/++, +++, ecc., significano vegetazione disforme.

Gli apprezzamenti riguardanti le fallanze hanno valore puramente relativo; + corrisponde ad a percentuale inferiore all'1 %; ++ corrisponde a pochissime unità per cento.

Gli apprezzamenti riguardanti le alterazioni del fogliame di presunta origine virotica hanno anch'essi tanto valore relativo. Come orientamento possono servire i seguenti riferimenti a dei valori assoi: — = 0 %; + = 0 ÷ 1 %; ++ = 1 ÷ 5 %; +++ = 5 ÷ 20 %; ++++ = 20 ÷ 100 %.

Le osservazioni sulla maculatura sono state eseguite su circa 1[illegible] tuberi per parcella dimezzati secdo la superficie di taglio massima. Sono stati classificati come maculati solo i tuberi con segni indubbi l'alterazione.

Non ritengo sufficienti gli elementi di giudizio disponibili per stabilire se c'è o non c'è stata correlazione fra l'intensità della maculatura bruna e lo sviluppo vegetativo o l'epoca di raccolta.

Nella fig. 12 è riprodotta la pianta del campo di orientamento in questione, e, in ogni parcella, la percentuale di tuberi maculati in essa riscontrati. Ritengo che da essa si possa desumere che nel campo stesso non sono esistiti definiti focolai di malattia di una certa entità in rapporto di posizione colla fila di « Majestic » ottenuta da semente affetta da maculatura bruna (indicata nella pianta come parcella n. 33, « Majestic » riprodotta, proveniente dal Laboratorio sperimentale di Patologia vegetale). Ciò vale a sfatare l'ovvio sospetto che la maculatura bruna potesse esser derivata alle piante del campo orientativo, in quanto contagiosa, dalla parcella sperimentale incriminata.

Tabella III

Confronto dell'intensità della maculatura del prodotto con quella della semente. Prodotto di una parcella sperimentale a S. Pietro in Casale, esaminato il 13 e 21.IX.1951

Campione		Semente				Prodotto							
						Da tuberi indenni				Da tuberi maculati			
N.	Provenienza	Tuberi indenni n.	Tuberi maculati n.	Totale tuberi n.	Tuberi maculati %	Tuberi indenni n.	Tuberi maculati n.	Totale tuberi n.	Tuberi maculati %	Tuberi indenni n.	Tuberi maculati n.	Totale tuberi n.	Tuberi maculati %
121/50	S. Giovanni in Persiceto	14	9	23	39	106	21	127	17	33	11	44	25
27/51	Altedo	1	8	9	89	20	3	23	13	89	11	100	11
91/51	»	12	12	24	50	82	20	102	20	96	8	104	8
97/51	Castel d'Aiano	?	?	?	?	83	30	113	27	94	17	111	15

Le osservazioni sono state eseguite su tuberi dimezzati secondo la superficie di taglio massima. Sono stati classificati come maculati solo i tuberi con segni indubbi dell'alterazione.

Lo scopo che mi proponevo seminando tuberi maculati era quello di accertare, se possibile, l'ereditarietà o la non ereditarietà della sindrome in questione. I risultati delle prove sono esposti nella tabella III in dettaglio, allo scopo di poterli meglio analizzare. Per quanto molte delle percentuali di maculatura in essa riportate abbiano valore problematico perchè desunte da campioni troppo scarsi, dall'esame della tabella III e da un confronto colla tabella II si può desumere:

a) che le percentuali di maculatura manifestatesi nella parcella sperimentale nei tuberi figli di tuberi indenni sono approssimativamente dello stesso ordine di grandezza (dal 13 al 27 %);



	VARIETA'	QUALIFICA	PROVENIENZA		VARIETA'	QUALIFICA	PROVENIENZA
1	SIEGLINDE	HOCHZUCHT	GERMANIA	17	BONA	RIPRODOTTA	FUCINO
2	MAJESTIC	ORIGINAL A	SVEZIA	18	ALLERFR. GELBE	HOCHZUCHT	GERMANIA
3	MAJESTIC	RIPRODOTTA	BRESSANONE	19	ALLERFR. GELBE	RIPRODOTTA	SILA
4	MAJESTIC	RIPRODOTTA	BRUNICO	20	SOMMERKRONE	HOCHZUCHT	GERMANIA
5	MAJESTIC	JEES	INGHILTERRA	21	OLYMPIA	HOCHZUCHT.	GERMANIA
6	MAJESTIC	RIPRODOTTA	SILA	22	ACKERSEGEN	HOCHZUCHT	GERMANIA
7	BINTJE	ORIGINALÉ	DANIMARCA	23	ALLERFR. GELBE	ÉLITE	AUSTRIA
8	BINTJE	ORIGINALE NT.	OLANDA	24	VERA	HOCHZUCHT	GERMANIA
9	BINTJE	ORIGINALE T.	OLANDA	25	ASCHES FORTUNA	HOCHZUCHT	GERMANIA
10	TONI	HOCHZUCHT	GERMANIA	26	CONCORDIA PSG	HOCHZUCHT	GERMANIA
11	SIEGLINDE	ORIGINALE	FINLANDIA	27	ERDGOLD PSG	HOCHZUCHT	GERMANIA
12	BINTJE	ORIGINALE	FINLANDIA	28	WIGA	HOCHZUCHT	GERMANIA
13	STAMM 335	HOCHZUCHT	GERMANIA	29	OBERANBACHER	HOCHZUCHT	GERMANIA
14	BINTJE	ORIGINALE	CECOSLOVACCHIA	30	ASCHES FRUEHPERLE	HOCHZUCHT	GERMANIA
15	BONA	RIPRODOTTA	BRUNICO	31	FRUEHGOLD	HOCHZUCHT	GERMANIA
16	BONA	HOCHZUCHT	GERMANIA	32	ALLERFR. GELBE	RIPRODOTTA	BRESSANONE
				33	MAJESTIC	RIPRODOTTA	LAB. PAT. VEG.

FIG. 12. – Pianta del campo di orientamento per la coltura della patata di S. Pietro in Casale, nella quale sono riportate le percentuali di maculatura bruna interna riscontrate nei tuberi prodotti. Non vi è alcun indizio di contagio da un focolaio iniziale qualsiasi.

b) che le percentuali di maculatura manifestatesi nella parcella sperimentale nei tuberi figli di tuberi maculati sono anch'esse approssimativamente dello stesso ordine di grandezza (dall'8 al 25 %);

c) che parcelle di « Majestic » del campo di orientamento, di provenienze diverse, alcune delle quali assai stimate negli ambienti commerciali, hanno anch'esse dato percentuali di maculatura dello stesso ordine di grandezza (dal 9 al 20 %);

d) che le percentuali di maculatura presentate dai tuberi figli di tuberi indenni (parcella sperimentale) sono dello stesso ordine di grandezza di quelle presentate dai tuberi figli di tuberi maculati (parcella

sperimentale) e di quelle presentate dai tuberi di « Majestic » di provenienze diverse (in complesso dall'8 al 27 %);

e) che le percentuali di maculatura presenti nelle sementi usate nella parcella sperimentale erano con ogni probabilità maggiori.

La prova di questione era stata impostata sull'ipotesi che la sindrome in discorso fosse ereditaria o prodotta da condizioni ambientali eccezionali (l'estate 1950 è stata eccezionalmente calda ed asciutta in Emilia), che io pensavo che difficilmente si sarebbero riprodotte in due annate consecutive in terreno compatto. Il controllo era costituito dalle parcelle di « Majestic » dell'attiguo campo di orientamento, che avrebbero dovuto mantenersi esenti dall'alterazione. In tal caso se la maculatura si fosse riprodotta nei tuberi figli di tuberi maculati e, ancor più, in quelli dei tuberi indenni della stessa partita, l'alterazione si sarebbe dovuta ritenere ereditaria; se non si fosse riprodotta, si sarebbe dovuta attribuire a cause ambientali. Per contro, essendo le « Majestic » del campo di orientamento venute meno alla loro funzione di controllo, la prova non è riuscita conclusiva. Tuttavia, mi sembra che l'interpretazione più semplice ed ovvia dei risultati su esposti si conseguirebbe attribuendo la maculatura stessa a fattori ambientali.

Sindromi simili già descritte

In sintesi, i caratteri essenziali della sindrome in questione sono: isole di tessuto bruno esclusivamente interne nei tuberi, assenza di sintomi epigei o, quanto meno, sintomatologia epigea assai poco appariscente, tanto da sfuggire facilmente ad un esame. Sgombrato pertanto il campo delle ipotesi diagnostiche da numerose malattie che provocano talora (in certe varietà e in certe condizioni ambientali) delle necrosi dei tuberi, come varî mosaici e varie necrosi del gruppo del mosaico comune, l'« yellow dwarf », il « psillid yellows », la « tuber necrosis » contagiata dall'erba medica affetta da mosaico, la dartrosi, ecc.; rimangono in lizza, per quanto io sappia, le seguenti sindromi: 1) quella prodotta da virus del gruppo del mosaico giallo o aucuba; 2) quelle prodotte da eccessi di calore e carenza di umidità del terreno; 3) quella prodotta da calcio-carenza; 4) quelle prodotte da fosforo-carenza in terreni acidi.

Alcuni ceppi degli ultravirus del gruppo del mosaico giallo (gruppi F e G della classificazione della scuola fitopatologica irlandese) (6) (7) producono talora in certe varietà di patate sulla parte aerea sintomi di clo-

rosi e necrosi, ma altri ceppi hanno manifestazioni epigee generalmente trascurabili o addirittura assenti nella massima parte delle varietà di detto ospite (6) (7) (14) (26) (28). Nei tuberi è generalmente presente una maculatura bruna interna localizzata preferibilmente nelle parti ombelicali di essi (26, p. 172) (7, p. 923) (17 confrontato con 3 (?)), fatto facilmente spiegabile perchè l'infezione giunge nei tuberi stessi dallo stolone. Essa compare solo dopo alcuni mesi di conservazione e si aggrava progressivamente durante la conservazione stessa (7, p. 923) (28). I reperti istologici delle macchie dei tuberi non sono caratteristici (cfr. (18) (19) (25)). Le malattie di questo gruppo sono trasmissibili ereditariamente (6) (7) (12) (13) (28) a mezzo dell'innesto (7) (28), del succo (6) (7) (27, p. 604) (31, p. 252), talora a mezzo di afidi (5) (6) (15) (28). In questo gruppo sono stati classificati i seguenti ultravirus: quello del mosaico aucuba; quello del « tuber blotch » o della necrosi pseudoreticolare o « pseudo-net necrosis »; quello del « Canada streak » e quello del « virulent tuber blotch »; i due ultimi producono anche dei vistosi sintomi epigei (5) (6) (7).

Le sindromi attribuite ad eccessi di calore e carenza di umidità nel terreno (2) (4) (8) (9) (10) (11) (19) (20) (22) (24) (29) (30) (34) mancano, come è naturale, di manifestazioni epigee. Alcune di esse, forse correlate più con carenze idriche che con eccessi di temperatura, hanno delle strette analogie con quella da me osservata (4, p. 48) (8, p. 45) (11) (19) (29) (34) (cfr. anche 32, p. 322; la sindrome studiata dal Wenzl è peraltro alquanto differente da quella da me considerata). Nei tuberi, anche qualche tempo prima della maturazione (19) (29) (34), compaiono delle macchie brune interne sparse nella polpa e localizzate preferibilmente verso l'apice del tubero (11) (29) (34), più frequenti e vistose nei tuberi grossi (11) (19) (30) (34); esse non si aggravano durante la conservazione (11) (19) (29) (34), nè facilitano il deperimento dei tuberi per marciume (11) (34). I reperti istologici forniti dalle macchie brune non sono caratteristici (cfr. (18) (19 (25) (34). Esse si manifestano esclusivamente nelle colture estive (2) (19) (34). Le varie varietà ne sono colpite con intensità assai diverse (2) (4, p. 48) (8, p. 45) (19) (20) (22) (30) (34).

La sindrome prodotta da calcio-carenza comprende nei casi più gravi, oltre ad una maculatura bruna interna dei tuberi, vistose manifestazioni sul fogliame; nei casi più lievi si limita alla maculatura dei tuberi (31).

Sembra che sindrome prodotta da fosforo-carenza consista esclusivamente in una maculatura bruna interna dei tuberi del noto tipo (1) (16).

Considerazioni

Da quanto è stato detto sopra appare probabile che i meccanismi patogenetici messi in movimento nei tuberi di patata dai suddetti agenti di malattia siano molto affini, cosicchè essi portano a manifestazioni finali difficilmente distinguibili. Tuttavia le osservazioni finora fatte — se pur non permettono di giungere ad una diagnosi sicura — permettono di orientarsi un poco fra le varie ipotesi.

Infatti mi sembra assai improbabile che i casi fitopatologici da me considerati, verificatisi in condizioni pedologiche varie, tra l'altro in terreni alluvionali ben concimati (anche con concimi fosfatici) e ben coltivati, possano attribuirsi a carenze di calcio e fosforo. Inoltre mi sembra che si possa attribuire un qualche valore patognomonico ai seguenti rilievi:

1) le macchie sono presenti nei tuberi al momento in cui essi vengono estratti dal terreno e probabilmente anche qualche tempo prima;

2) le macchie sono disposte preferibilmente in prossimità del polo gemmifero del tubero;

3) la disposizione delle macchie in tuberi malformati in conseguenza di arresti e riprese di sviluppo attribuibili a momentanea carenza idrica ed eccessi di temperatura fa pensare ad una probabile correlazione delle due manifestazioni. Queste considerazioni mi conducono a dare la preferenza all'ipotesi degli eccessi di calore e delle carenze idriche.

Mi è sembrato tuttavia dapprima strano che nell'estate 1951, notoriamente mite, si siano verificate in un terreno « freddo » come quello di S. Pietro in Casale condizioni tali da produrre in alcune varietà così frequentemente delle necrosi. Ho perciò scorso i dati meteorologici del Campo sperimentale di Corticella, posti in un terreno di natura simile, a circa 17 km di distanza in linea retta da S. Pietro in Casale, e quelli (relativi solo alle precipitazioni) di S. Pietro in Casale stesso *.

Ho potuto così rilevare che a Corticella fra il 13 e il 20.VI la temperatura del terreno a 3 cm di profondità ha raggiunto quotidianamente massimi compresi fra i 40° e i 45° C, restando in alcuni giorni per parecchie ore al giorno al di sopra dei 40° C. Tali estremi si sono raggiunti verosimilmente, oltre che per la temperatura dell'aria, per l'umidità del

---

* Ringrazio l'Istituto di Agronomia dell'Università di Bologna e la locale Sezione Idrografica del Genio Civile per aver messo a mia disposizione le loro misurazioni.

terreno presumibilmente scarsa, in quanto dopo le abbondanti piogge delle prime due decadi di maggio (108 mm) è successo un periodo siccitoso durato fino al 20.VI, quando è stato interrotto da una pioggia di 16 mm che ha fatto abbassare notevolmente la temperatura del terreno.

A S. Pietro in Casale, con temperature dell'aria verosimilmente assai analoghe, si sono verificate piogge sensibilmente più scarse (77 mm) nelle prime due decadi di maggio, una pioggia di 15 mm il 9.VI ed una di 16 mm il 21.VI, quindi è presumibile che fra il 13 e il 21.VI le temperature del terreno non siano state inferiori — a parità di altre condizioni — a quelle di Corticella.

È da notarsi inoltre che nell'estate del 1950, che notoriamente è stata considerata in Emilia assai calda e siccitosa, il periodo di più elevata temperatura del terreno è stato a Corticella fra il 28.VI e il 10.VII: durante esso la temperatura del terreno a 3 cm di profondità ha raggiunto quotidianamente massimi compresi fra i 40° e i 43° C, restando per alcuni giorni parecchie ore al giorno al di sopra dei 40°.

Mi pare assai azzardato voler dedurre da misure di temperatura prese in terreno nudo, in altra località, le temperature del terreno — sia pure di natura confrontabile — coltivato a patate del campo di orientamento di S. Pietro in Casale e il voler concludere che la temperatura e la disponibilità idrica di esso hanno raggiunto nella scorsa estate livelli nocivi per i tuberi in esso contenuti. La conclusione della mia analisi è molto più modesta: nell'ipotesi che l'alta temperatura e la deficiente umidità del terreno siano state nocive per la vegetazione ipogea, nel 1951 verosimilmente esse dovrebbero aver prodotto danni non inferiori a quelli del 1950. E che questa ipotesi non sia da escludersi lo dimostra il fatto che i tuberi di patata sono assai sensibili agli effetti delle alte temperature e a sottrazione di umidità da parte del fogliame, come è stato recentemente dimostrato sperimentalmente dal Wenzl (32, p. 322) (33, pp. 34-36).

Resti tuttavia ben fermo che la natura della sindrome in questione non potrà essere definitivamente accertata che dimostrandone in modo inoppugnabile l'ereditarietà e la contagiosità o dimostrandone la non ereditarietà e riproducendola sperimentalmente con mezzi fisici.

RIASSUNTO

Viene descritta dettagliatamente una maculatura bruna interna dei tuberi di patata comparsa nel 1950 e nel 1951 in parecchie località dell'Emilia. Le macchie erano presenti già alla raccolta, erano disposte preferibilmente in prossimità del polo gemmifero del tubero ed erano spesso

accompagnate, sullo stesso tubero o su altri della medesima partita, da alterazioni per arresti e per riprese di sviluppo attribuibili a momentanee carenze idriche e ad eccessi di temperatura; nessun sintomo appariscente è stato osservato sul fogliame. Una prova intesa ad accertare l'ereditarietà di tale alterazione non ha dato risultati conclusivi. Vengono esposti i motivi per cui si ritiene che tale sindrome possa esser stata prodotta da eccessi di temperatura e carenza di umidità nel terreno.

SUMMARY

AN INTERNAL BROWN BLOTCH OF POTATO TUBERS OBSERVED IN 1950 AND 1951 IN THE EMILIA DISTRICT

by ALBERTO MEZZETTI

An internal rusty blotch of potato tubers observed in several localities of the Emilia district in 1950 and 1951 is described. It was noted already at lifting time, was frequently localized near the bud end and was often found together with symptoms of second growth referable to drought and heat injuries; no remarkable foliar symptom was present. A trial to ascertain its inheritability has not been conclusive. It is tentatively ascribed to high soil temperatures and lack of adequate soil moisture during development of tubers.

BIBLIOGRAFIA

(1) ANONIMO. Spraing, internal rust spot and net necrosis of the potato tuber. *Min. of Agr. and Fisher., Advisory Leafl. No. 290*, London, 1949.

(2) BERKNER, F. Eisenfleckigkeit bei Kartoffeln. Wesentliche Sortenunterschiede. Abhängigkeit der Befallstärke von Jahreswitterung und Boden. *Mitt. für die Landw.*, 1934, XLIX, S. 378-380. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, Kew, Surrey, 1934, XIII, pp. 590-591).

(3) BJÖRLING, K. Inventeringar av växtsjukdomar i odlingar av Fabrikspotatis. *Medd. Växtskyddsanst., Stockh.*, 47, 1946, 16 pp. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1947, XXVI, p. 315).

(4) BLODGETT, E. C., and RICH, A. E. Potato tuber diseases, defects, and insect injuries in the Pacific Northwest. *Wash. Agr. Exp. Sta. Popular Bull. No. 195*, 1949, pp. 43 e 48.

(5) Clinch, P. E. M. A strain of the tuber blotch virus causing top necrosis in potato. *Sci. Proc. R. Dublin Soc.*, 1941, XXII, n. s., pp. 435-445. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1942, XXI, p. 265).

(6) Clinch, P. E. M., Loughnane, J. B., and Murphy, P. A. A study of the aucuba or yellow mosaics of the potato. *Sci. Proc. R. Dublin Soc.*, 1936, XXI, n. s., pp. 431-448. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1937, XVI, pp. 117-118).

(7) Dykstra, T. P. A study of viruses causing yellow mosaics in European and American varieties of the potato, *Solanum tuberosum*. *Phytopath.*, Lancaster. Pa., 1939, XXIX, pp. 917-933.

(8) Dykstra, T. P. Potato diseases and their control. *U. S. Dept. Agr., Farmers' Bull. No. 1881*, Washington, D. C., 1948, pp. 45 e 47.

(9) Ehrke, G. Untersuchungen über die Eisenfleckigkeit der Kartoffel. *Biochem. Z.*, 1935, CCLXXVIII, S. 195-225. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1935, XIV, p. 717).

(10) Ehrke, G. Zur Eisenfleckigkeit der Kartoffeln. Wie verhalten sich eisenfleckige Kartoffeln im Winterlager und in welchem Masse wird der Pflanzgutwert der Kartoffeln herabgesetzt? *Dtsch. landw. Pr.*, 1938, LXV, S. 15-16. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1938, XVII, p. 410).

(11) Friedman, B. A. Behavior of potato internal brown spot in stored tubers. *Phytopath.*, 1950, XL, pp. 899-901.

(12) Fruwirth, C. Vererbliche Eisenfleckigkeit bei Kartoffeln. *Dtsch. landw. Pr.*, 1929, LVI, S. 78. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1930, IX, p. 199).

(13) Gigante, R. Risultati di un'esperienza sull'ereditarietà della maculatura interna dei tuberi di patata. *Boll. R. Staz. Pat. veg.*, 1932, XII, n. s., pp. 275-277.

(14) Gigante, R. Esperienze d'orientamento sulla « maculatura ferruginea » dei tuberi di patata. *Boll. R. Staz. Pat. veg.*, Roma, 1940, XX, n. s., pp. 189-204.

(15) Heinze, K. Zur Uebertragung pflanzlicher Viruskrankheiten durch Blattläuse. *NachrBl. dtsch. PflSchDienst* (Braunschw.), 1950, 2, S. 49-53. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1950, XXIX, pp. 636-637).

(16) Hérisson-Laparre, E. Influence du superphosphate de chaux sur la maladie des taches brunes de la pomme de terre. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, 1939, XXV, p. 45-47. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1939, XVIII, p. 476).

(17) Josefsson, A. Rostfläcksjuka hos potatis. *Sver. Utsädesfören. Tidskr.*, 1945, LV, pp. 34-42. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1945, XXIV, p. 385).

(18) Kerling, L. C. P. Microscopisch onderzoek van pseudonetnecrose en kringerigheid van de aardappel. *Lab. voor Myc. en Aardappelonderz., Wageningen, Meded. No. 50*, 1929. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1930, IX, pp. 477-478).

(19) Larson, R. H., and Albert, A. R. Physiological internal necrosis of potato tubers in Wisconsin. *Journ. Agric. Res.*, Washington, D. C., 1945, LXXI, pp. 487-505.

(20) Larson, R. H., and Albert, A. R. Relation of potato varieties to incidence of physiological internal tuber necrosis. *Amer. Potato J.*, 1949, 26, pp. 427-431. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1950, XXIX, p. 376).

(21) Mezzetti, A. Effetti di momentanee deficienze idriche e di eccessi di temperatura del terreno sui tuberi di patata. (In corso di compilazione).

(22) Moore, W. C. Report on fungous, bacterial and other diseases of crops in England and Wales for the years 1943-1946. *Min. of Agr. and Fisher., Bull. No. 139*, London, 1948, pp. 25-26.

(23) Moore, W. C. New and interesting plant diseases. 36. Pre-storage black heart in potato tubers. *Trans Brit. Mycol. Soc.*, London, 1949, XXXII, pp. 97-99.

(24) Murphy, P. A. Some effects of drought on potato tubers. *The Empire J. of Experim. Agric.*, 1936, IV, p. 244.

(25) Pasinetti, L. Ricerche istologiche sulla « maculatura ferruginosa » (Eisenfleckigkeit) dei tuberi di patata. *Riv. Pat. veg.*, Pavia, 1935, XXV, pp. 185-227.

(26) Petri, L. Maculatura interna ereditaria dei tuberi di patata. *Boll. R. Staz. Pat. veg.*, Roma, 1931, n. s., XI, pp. 171-175.

(27) Quanjer, H. M. The methods of classification of plant viruses, and an attempt to classify and name potato viruses. *Phytopath.*, 1931, 21, p. 604.

(28) Quanjer, H. M., Thung, T. H., en Elze, D. L. « Pseudonetnecrose » van de aardappel. *Lab. voor Myc. en Aardappelonderz., Wageningen, Meded. No. 49*, 1929, 10 pp., 7 fig. f. t.

(29) Ramsey, G. B., Wiant, J. S., and Smith, M. A. Market diseases of fruits and vegetables. Potatoes. *U. S. Dept. Agr., Miscell. Publ. No. 98*, Washington, 1949, pp. 25-26.

(30) Soltau, F. Erfahrungen über die Eisenfleckigkeit der Kartoffel. *Dtsch. landw. Pr.*, 1934, LXI, S. 84. (Riass. nella *Rev. Appl. Myc.*, 1934, XIII, p. 467).

(31) Van Schreven, D. A. Physiologische proeven met de aardappelplant. *Lab. voor Myc. en Aardappelonderz., Wageningen, Meded. No. 75*, 1935, 23 pp.

(32) Wenzl, H. Untersuchungen über die *Colletotrichum*-Welkekrankheit der Kartoffel. I. Schadensbedeutung, Symptome und Krankheitsablauf. *Pflanzenschutzberichte*, Wien 1950, V, S. 315-323.

(33) Wenzl, H. Untersuchungen über die *Colletotrichum*-Welkekrankheit der Kartoffel. II. Die Hydratur welkekranker Knollen. *Pflanzenschutzberichte*, Wien 1951, VI, S. 33-57.

(34) Zimmermann-Griess, S. Internal rust spot of potatoes. *Palest. J. of Bot., Rehovot Series*, Tel Aviv, 1947, VI, pp. 174-180.

Ricévuto il 3 luglio 1952.

STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE
(Direttore: Cesare Sibilia)
ROMA

ANNA SAPONARO

PRESENZA DI *GLOEOSPORIUM OLIVARUM* ALM. SUGLI ORGANI VEGETATIVI DELL'OLIVO NEL LECCESE E NEL BRINDISINO

Nel dicembre del 1951 giungevano a questa Stazione campioni di olivo provenienti da diverse località del Leccese e del Brindisino, dove la coltivazione di quest'albero occupa una superficie di oltre cinquemila ettari (fig. 1).

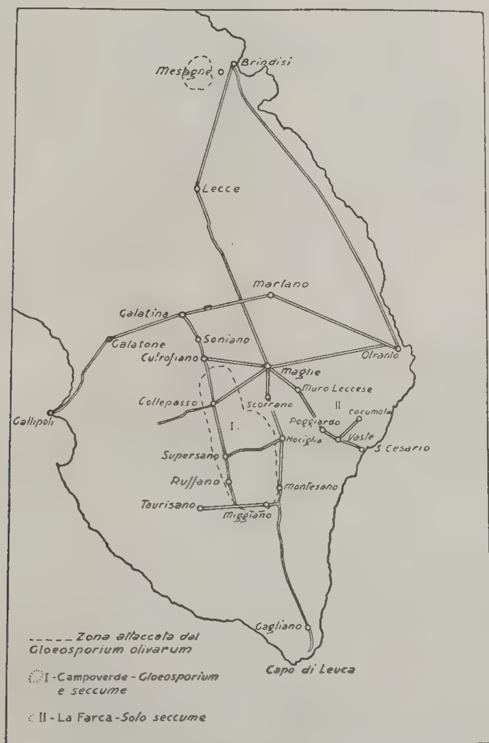


FIG. 1. – Aree della Puglia meridionale nelle quali si sono verificati gli avvizzimenti.

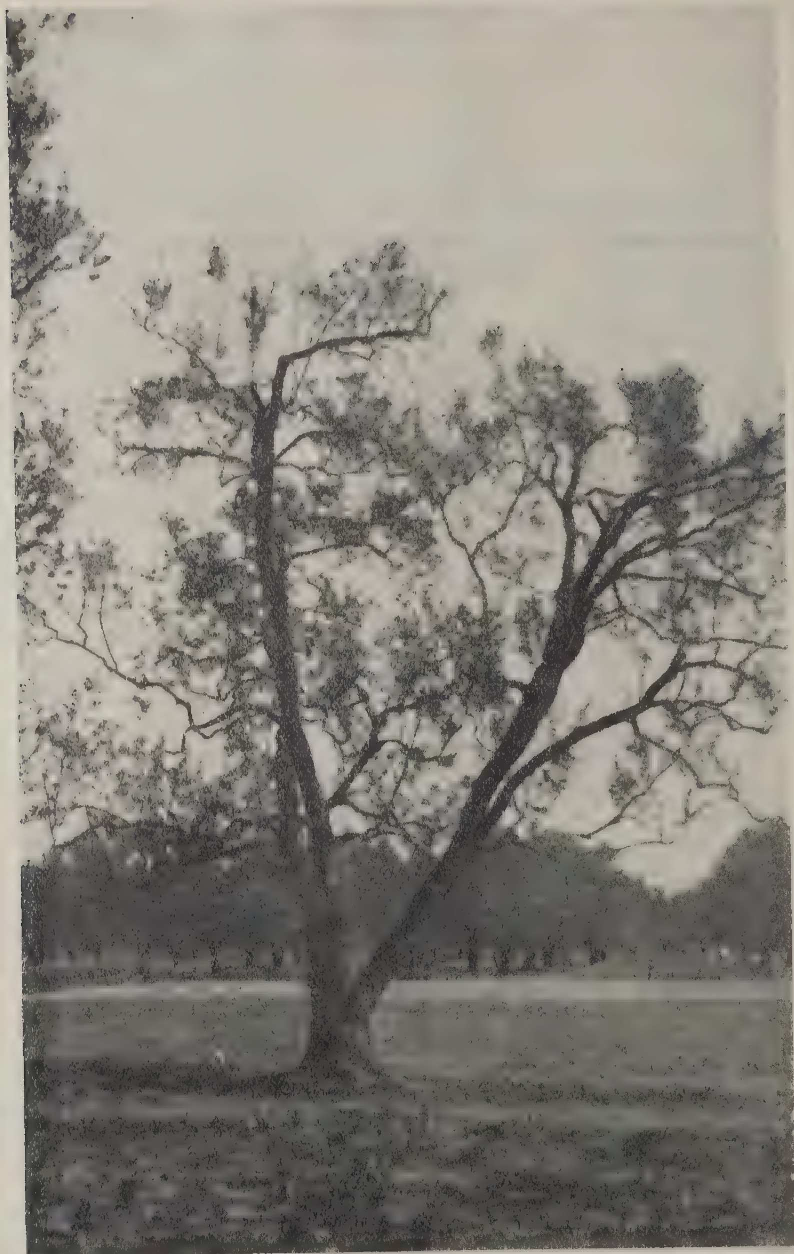


Fig. 2. – Aspetto di un olivo defogliato dopo la rimonda (fotografia dell'Ispettorato agrario di Brindisi).

Gli agricoltori del luogo segnalavano cascola dei frutti ed avvizzimento della chioma con conseguente caduta delle foglie (figg. 2 e 3), e di ciò essi si mostravano particolarmente preoccupati in quanto il fenomeno, da qualche anno, andava aggravandosi e pregiudicava il raccolto e la qualità dell'olio prodotto, in modo tale da indurre i proprietari stessi a chiedere di sostituire l'olivo con altre coltivazioni.



FIG. 3. – Particolare di olivo intristito (fotografia della Stazione di Patologia vegetale di Roma).

I campioni inviati comprendevano frutti e rami; dall'esame di questo materiale risultava che i frutti erano colpiti da un fungo melanconiale, *Gloeosporium olivarum* Alm., che causa la ben nota « lebbra » segnalata da Ciccarone nel 1950, nella stessa zona di Lecce. Le drupe infatti presentavano l'epicarpo raggrinzito e ricoperto di pustole fungine (acervuli) da cui fuoriuscivano masse cerose di conidi ialini, continui, irregolarmente ovali, allungati, di tonalità rosa-salmone.

Appunto a quest'alterazione delle olive era dovuta la qualità scadente dell'olio che prendeva un aspetto melmoso ed un colore rossastro, presentando acidità altissime. Anche nelle acque di vegetazione furono trovati conidi per quanto non più vitali, perchè osservati dopo un mese di riposo: infatti prove di germinazione ebbero esito negativo.

I rami inviati in più riprese e su cui più particolarmente si effettuarono le ricerche erano in gran parte privi dei frutti, disarticolantisi all'in-

serzione del peduncolo, e spesso anche delle foglie ascellanti delle infruttescenze. I brindilli presentavano pertanto una accentuata filloptosi ed erano tipicamente spogli per tutta la loro lunghezza meno che per un ciuffo apicale di foglie (fig. 4). Quando le drupe erano presenti anche all'apice del rametto, questo rimaneva privo di foglie per tutta la sua



Fig. 4. – Brindillo defogliato.

lunghezza. Le foglie, prima di cadere, presentavano distalmente o lungo il margine della lamina zone decolorate diffuse così da costituire macchie non ben definite e non localizzate che gradatamente sfumavano nel verde circostante e da un colore giallastro iniziale passavano successivamente ad un colore bruno-cuoio.

Tali macchie potevano presentarsi anche in più punti della lamina; e, a volte, tutto il lembo era imbrunito. Le foglie, prima di cadere, si accartocciavano, cosicchè i due margini del lembo a volte arrivavano a sovrapporsi. Anche i rami presentavano qualche volta un imbrunimento.

L'osservazione microscopica dei tessuti alterati permise di vedere micelio nel tessuto lacunoso delle foglie e nel parenchima corticale dei

rametti per cui si ritenne opportuno eseguire degli isolamenti sia dalle foglie che dai rami. Il materiale venne sterilizzato mediante un bagno in sublimato corrosivo all'1/1000 per la durata di 90″ e successivamente risciacquato più volte in acqua sterile. Le semine furono fatte su agar di Czapek-Dox prelevando dalle foglie al limite delle zone decolorate e

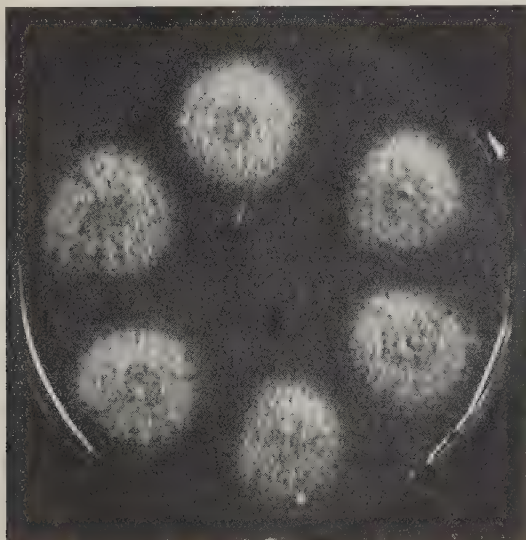


FIG. 5. – Piastra di isolamento da foglie in avvizzimento. Si sono ottenute costantemente colonie di *G. olivarum*.

dai rami subito al di sotto della corteccia esterna; dopo qualche giorno da èsse fu isolato un fungo che, per le sue caratteristiche, potè essere riferito al genere *Gloeosporium*. Infatti l'aspetto delle colonie e delle fruttificazioni, la forma dei conidi e le strutture del micelio corrispondevano ai caratteri attribuiti a detto genere.

Lo stésso *Gloeosporium* fu isolato anche dai peduncoli dei frutti; e successivi isolamenti da altri campioni pervenuti dettero il medesimo risultato, ottenendosi con frequenza questo fungo particolarmente dalle foglie (fig. 5).

Dalla letteratura precedente risulta che il genere *Gloeosporium* fu per la prima volta segnalato da Almeida su olive nel 1899, in Portogallo. Lo stesso autore denominò la specie da lui trovata *G. olivarum* e chiamò « gaffa » la malattia da essa causata. Nel 1950, come più sopra

è stato brevemente accennato, il *G. olivarum* veniva segnalato in Italia da Ciccarone nelle stesse zone del Leccese attualmente in esame. Poichè i caratteri di *G. olivarum*, descritti da Ciccarone, sembrarono corrispondere a quelli del fungo in esame, ci si chiese se lo stesso fungo, precedentemente riscontrato come parassita del frutto negli oliveti del Leccese, avesse potuto colpire anche le foglie e i rami.

Il *G. olivarum* è comunemente ritenuto un parassita frutticolo dell'olivo nonostante che nel 1930 Nagorny ed Eristavi, descrivendo una gloeosporiosi degli olivi in Abkhasia, riferiscano che raramente il fungo si trovi anche sulle foglie. Laubert inoltre nel 1928 segnala sul Lago di Garda la presenza di macchie circolari scure, che gli attribuisce a *G. nobile* Sacc., su foglie di olivo.

Conoscendo tuttavia la facile variabilità che può presentare il *G. olivarum* sembrò necessario eseguire delle prove di inoculazione del fungo isolato dai rami e dalle foglie su olive sane.

Le olive da inoculare furono sterilizzate con sublimato corrosivo all'1/1000 con l'aggiunta di qualche goccia di Teepol (detergente della Shell), perchè facilitasse l'adesione del disinfettante; si tennero in questo bagno per due minuti e indi furono risciacquate più volte in acqua sterile. Quando furono completamente asciutte le olive furono poste in scatole Petri su carta da filtro leggermente inumidita. Le inoculazioni furono fatte con tre ceppi di *G. olivarum* isolati rispettivamente dalle foglie, dai rami e dai frutti, e le modalità furono varie: si inoculò separatamente solo micelio o solo conidi, o micelio e conidi insieme, mediante ferita o deponendo semplicemente l'inoculo sul frutto; e per ogni prova si tennero testimoni inoculati con agar di Czapek-Dox sterile. Furono eseguite tre serie di inoculazioni: una prima volta su olive non ancora mature, tenute alla temperatura di 23°-24° C; una seconda volta su olive mature, alla temperatura ambiente di 13°-14° C; ed una terza volta ancora su olive mature, alla temperatura di 23°-24° C.

Alla distanza di 7 o 8 giorni si notarono i primi risultati: le olive inoculate infatti presentavano sulla superficie un micelio grigio chiaro che si andava successivamente estendendo così da ricoprire tutto il frutto (fig. 6 *a*, *b*) e, all'osservazione microscopica, si presentava ricco di conidi; in parecchi casi sul frutto si differenziavano pustole rosa simili a quelle di *G. olivarum*.

Il 77 % delle olive inoculate dette esito positivo; nelle rimanenti la presenza di qualche inquinamento, *Alternaria* o *Penicillium*, limitò e qualche volta sopraffece lo sviluppo del fungo. Non si osservarono sostanziali differenze tra le olive inoculate con i diversi ceppi di *Gloeosporium* e, in modo particolare, si notò che quelle tenute a temperatura ambiente pre-

sentavano maggiore frequenza di acervuli, riproducendosi in tal modo l'alterazione tipica del *G. olivarum*.

Infatti l'epicarpo si mostrava depresso, raggrinzito e ricco di pustole, mentre nelle olive inoculate, tenute alla temperatura di 23°-24° C, si riscontrava un maggiore sviluppo di micelio aereo.

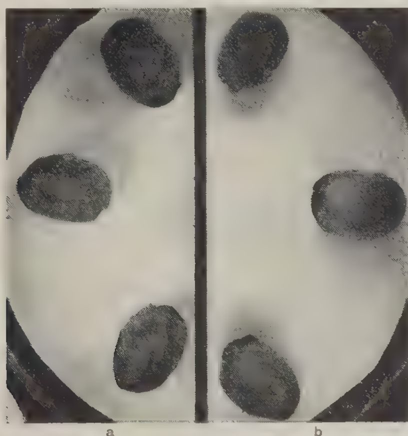


Fig. 6. — a: olive inoculate con *G. olivarum* isolato da foglie; b: olive inoculate con *G. olivarum* isolato da frutto.

Si prelevò una piccola parte dell'epicarpo di alcune olive inoculate ed alterate e le si incluse in paraffina per permetterne l'attenta osservazione microscopica. Sezioni condotte attraverso i tessuti alterati, colorate con emallume e safranina, mostrarono chiaramente al di sopra di uno stroma scuro, gli acervuli di *G. olivarum* erompenti dalla cuticola in corrispondenza delle pustole.

Furono eseguite semine monoconidiche con materiale proveniente dalle olive inoculate e fu reisolato sempre lo stesso *Gloeosporium*. Le semine dai controlli rimasero sterili.

Dai risultati delle suddette prove si potè così accertare che il fungo in esame poteva identificarsi con *G. olivarum* di cui mostrava i medesimi caratteri morfologici e fisiologici. Osservazioni colturali confermarono l'identità biologica dei due funghi.

A questo scopo infatti furono coltivati i tre ceppi di *G. olivarum*, cioè isolamenti monoconidici da frutto, da rami e da foglie, in una stessa piastra. Non furono riscontrate differenze degne di rilievo tra le varie colonie, ad eccezione di variazioni di colore che però rientravano sempre nei limiti di variabilità dei singoli ceppi. Infatti anche in una stessa colonia

si osservarono a volte settori varianti; durante l'accrescimento le colonie si fusero tra loro.

Furono compiute anche osservazioni biometriche misurando la lunghezza e la larghezza di 50 conidi presi da ogni ceppo di *G. olivarum*; i risultati sono riassunti nell'acclusa tabella e per la lunghezza nel grafico che segue. Dalla osservazione dei dati riportati nella tabella e nel grafico risulta che le dimensioni dei conidi in coltura tendono ad essere maggiori di quelle degli stessi ceppi (rami, foglie, frutti) inoculati su olive, ma che queste differenze dimensionali rientrano sempre nei limiti normali di variabilità del fungo, non sono cioè significative.

Provenienza dei conidi	Numero dei conidi osservati	Lunghezza				Larghezza			
		media	valore più frequente	massima	minima	media	valore più frequente	massima	minima
1. – Foglie infette naturalmente (in coltura)	50	16,11	14,50	24	14,50	3,20	3	4	2,50
2. – Rami infetti naturalmente (in coltura)	50	16,42	16,80	21,50	12	3,47	3 e 3,50	4,50	3
3. – Olive inoculate con *G. olivarum* isolato da foglie .	50	12,66	12	17	9,60	2,90	3	4	2,40
4. – Olive inoculate con *G. olivarum* isolato da rami . .	50	13,24	14,40	16	9	3,23	3	4	2,40
5. – Olive inoculate con *G. olivarum* isolato da frutto .	50	12,09	12	16	9,60	2,76	3	3,60	2,40

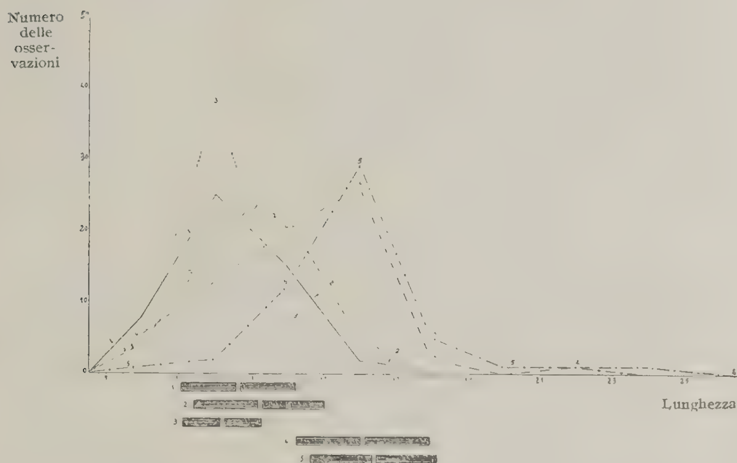
Inoculazioni furono anche eseguite su rametti di olivo sani, distaccati dalla pianta e posti in matraccini contenenti acqua di fonte. Alcuni rami furono inoculati spruzzandoli con conidi, sospesi in acqua sterile, provenienti da una oliva inoculata con *G. olivarum* isolato da foglie; i testimoni furono spruzzati con acqua sterile. Altri rami furono inoculati, con o senza ferita, con pezzetti di colture di reisolamento da olive inoculate con *G. olivarum* isolato da rami; i testimoni furono inoculati con agar di Czapek-Dox sterile. I rami inoculati furono posti sotto campana, in ambiente leggermente umido, alla temperatura di 18°-20° C. Dopo 10 giorni non si riscontravano ancora alterazioni del lembo fogliare; le foglie cadevano, ma il fenomeno sembrava ugualmente presente nei testimoni.

Si fecero tuttavia isolamenti anche da questo materiale sterilizzandolo sempre, prima della semina, con bicloruro di mercurio all'1/1000.

I risultati furono i seguenti: si ottenne *G. olivarum* dalle foglie e dai rami inoculati, mentre le piastre dove era stato seminato materiale prelevato dai testimoni rimasero sterili.

Questi risultati sembrarono mostrare che il fungo era penetrato nei tessuti ma che, per lo meno nel breve spazio di 10 giorni, esso non aveva dimostrato attività patogene evidenti.

Lunghezza dei conidi di *Gloeosporium olivarum*



1 ——— Conidi prelevati da olive inoculate con colture del fungo ottenute da foglie.
2 - - - - - - Conidi prelevati da olive inoculate con colture del fungo ottenute da rami.
3 .... Conidi prelevati da olive inoculate con colture del fungo ottenute da drupe.
4 —·—·— Conidi prelevati da colture su Czapek-Dox di *Gloeosporium olivarum* da foglie.
5 —+—+— Conidi prelevati da colture su Czapek-Dox di *G. olivarum* da rami.
▭▭ Scarto quadratico medio (σ) della lunghezza dei conidi di *G. olivarum*.

Dall'esito delle prove di laboratorio e dall'osservazione degli organi ammalati, si ritiene dunque di poter concludere che *G. olivarum* può attaccare gli organi vegetativi dell'olivo, ma che ciò è in rapporto a condizioni di ambiente, favorevoli al fungo, e a depressa vitalità dell'ospite. Già Ciccarone (1950) a questo proposito aveva messo in evidenza che l'infezione si è manifestata con maggiore virulenza nella zona di Campo Verde, dove l'ambiente è particolarmente adatto allo sviluppo del fungo, essendovi in quest'ampia bassura una falda freatica superficiale e frequenti ristagni di acqua; *G. olivarum*, come è noto, è particolarmente dannoso in ambiente umido.

D'altra parte l'eccessiva umidità del suolo, rendendo difficoltosa l'attività radicale, deprime il vigore della pianta e facilità così indirettamente l'attacco fungino.

L'insieme di questi fattori, favorevoli al fungo e sfavorevoli alla vita della pianta, può spiegare l'estendersi e l'aggravarsi dell'infezione in questi ultimi tempi.

Non si intende dare in questa breve nota orientamento nella lotta. Si accennerà solo che la lotta indiretta, la quale sembra aver già dato in qualche caso risultati positivi, dovrebbe tendere a sistemare il terreno in modo da evitare i ristagni di acqua, migliorare le condizioni di vita della pianta e rendere l'ambiente meno favorevole al fungo. La lotta diretta, con poltiglia bordolese all'1 %, potrebbe essere limitata alle zone dove si riscontrano i focolai d'infezione primitiva.

RIASSUNTO

Sono descritte alterazioni dei rami e delle foglie e filloptosi degli olivi del Leccese e del Brindisino. Sugli organi alterati viene segnalata la presenza di *Gloeosporium olivarum* Alm. Sono riportati i risultati di prove d'inoculazione del fungo, isolato dai rami e dalle foglie, su olive sane e su rametti di olivo, ed i risultati di alcune osservazioni colturali e biometriche. Si conclude che l'attacco di *G. olivarum* agli organi vegetativi dell'olivo è in rapporto con le condizioni ambientali ed edafiche cui è soggetto l'ospite, ed in ultimo si accenna brevemente a possibili mezzi di lotta che si ritengono praticamente applicabili nel caso attuale.

SUMMARY

ON THE PRESENCE OF *GLOEOSPORIUM OLIVARUM* ALM. ON THE VEGETATIVE ORGANS OF THE OLIVE TREE IN THE LECCE AND BRINDISI PROVINCES

by Anna Saponaro

The author describes a blight of the twigs and of the leaves of the olive tree and a leaf-fall of the same plant in the provinces of Lecce and of Brindisi. From the affected organs *G. olivarum* was consistently isolated. The fungus was inoculated on healthy fruits and twigs. It was cultivated and compared with isolates of the same fungus from fruits. The results of all these observations are reported. It is concluded that

the attack of *G. olivarum* on the vegetative organs of the olive tree is in relation with the environmental and soil conditions to which the host plant is subject. In conclusion, general directions are briefly given on the means of control which seem to be practically applicable to the present case.

LAVORI CITATI

Almeida, J.-V. La gaffa des olives en Portugal. *Bull. Soc. Mycol. France,* 1899, XV, 90-94.

Ciccarone, A. Considerazioni biologiche e sistematiche sull'agente della « lebbra » delle olive, recentemente osservata nel Leccese. *Boll. Staz. Patol. veg. Roma,* 1950, anno V, serie terza, 143-165.

Laubert, R. Botanische, phänologische und pflanzenpathologische Beobachtungen am Garda-See. *Gartenflora,* 1927, LXXVI, 284-286, 367-370, 402-403 (in *R.A.M.*, 1928, VII, 12).

Nagorny, P. I., and Eristavi, E. M. A brief survey of plant diseases in Abkhasia in 1928. *Publ. Agric. Exp. Sta. Abkhasia,* n. 38 (in *R.A.M.*, 1930, IX, 226-227).

Ricevuto il 4 luglio 1952.

STAZIONE CHIMICO-AGRARIA SPERIMENTALE
(Direttore: Luigi Marimpietri)
ROMA

Giuseppe Gattorta

DETERMINAZIONE DELLA COSTITUZIONE FISICO-MECCANICA DEI TERRENI NELL'ANALISI SERIALE

Nel lavoro seriale di analisi chimico-pedologiche, reso sempre più intenso dalle esigenze della tecnica agraria moderna, si è determinato presso i laboratori un orientamento verso i sistemi analitici di più pratica esecuzione. Occorre infatti espletare un numero sempre crescente e già in certe stagioni esuberante di analisi di terreni, e nel più breve lasso di tempo, onde accade che la tradizionale esattezza analitica possa venire, pur in lieve misura, sacrificata a vantaggio della tempestività dei referti analitici, i quali debbono essere soprattutto impostati alla chiarezza per la facile applicabilità delle prescrizioni.

L'analisi fisico-meccanica dei terreni, molto frequentemente richiesta, è considerata una delle più laboriose e come tale è stata oggetto di ricerche intese a ridurla alla portata del lavoro seriale. I vecchi procedimenti di dosaggio delle frazioni, ottenute mediante levigazione e sedimentazione, hanno ceduto via via la preferenza a metodi di valutazione indiretta o diretta su parti aliquote e nel corso di tale evoluzione si sono affermati il sistema aerometrico di U. Pratolongo (1), adottato da Boujoucos, quello alla bilancia di Sven Oden, l'apparecchio di Wiegner ed altri ancora, ma soprattutto il metodo alla pipetta suggerito da G. W. Robinson. L'introduzione di quest'ultimo metodo, che offre le migliori prospettive di praticità ed esattezza, è stata seguìta da molte indagini volte al fine di perfezionare i dettagli operativi e gli apparecchi più adeguati, in rapporto alle esigenze di laboratorio ed ai tipi di terreno più diffusi nei vari Paesi.

Per i terreni italiani, fra i quali prevalgono i tipi calcarei e quelli ricchi in sesquiossidi, precedenti ricerche erano state eseguite col sistema alla pipetta da molti sperimentatori, fra i quali il compianto M. Stanganelli (2), ma le indagini invero non avevano portato ad un sistema d'impiego realmente seriale.

Lo scopo delle ricerche che formano oggetto della presente nota e che mi furono affidate dal direttore della Stazione prof. L. Marimpietri, consistono nell'applicare e mettere a raffronto fra loro alcuni fra i più noti procedimenti per l'analisi meccanica alla pipetta, su terreni largamente rappresentati in Italia, ed ancora di apportare ai procedimenti stessi ed all'apparecchiatura ogni perfezionamento utile per la più rapida esecuzione dell'analisi.

Selezione dei metodi

Per la scelta del metodo più adeguato ai fini accennati si sono considerati separatamente: il trattamento preliminare del campione ed il sistema da usare per il dosaggio delle frazioni. Su tali quesiti gli studiosi avevano già dato numerosissime risposte, alle quali non si vuole aggiungere alcunchè di nuovo con la presente nota, il cui scopo è soltanto quello di discriminare fra le varie soluzioni già adottate.

Dispersione del campione

Il metodo più rispondente ai fini dell'analisi seriale deve soddisfare le seguenti esigenze:

1) dispersione completa del campione;
2) rapidità d'esecuzione;
3) minore attacco possibile del calcare e dell'humus;
4) esattezza di risultati sul più largo numero di tipi di terreno.

È stata scartata la possibilità dell'impiego del metodo internazionale A (3), poichè con la distruzione preventiva del calcare e dell'humus vengono ad essere eliminati due costituenti specialmente importanti per i suoli mediterranei e poichè esso non risolve il problema dei terreni salini.

In primo luogo si è applicato il metodo di Vageler ed Alten al carbonato di litio (4). Tale metodo, pur dando degli ottimi risultati in molti casi, non risponde allo scopo, allorchè il terreno presenta anomalie, quali un elevato contenuto di calcare o di humus o di ossidi idrati di ferro o di sali solubili. Modificando leggermente il metodo, facendo cioè bollire la sospensione dopo l'aggiunta di carbonato di litio, si può ancora estendere l'applicazione a terreni ferruginosi ed umiferi ma non a quelli calcarei ed ai salmastri, per i quali ultimi è sempre necessariá l'asportazione dei sali mediante ripetuti lavaggi.

Il metodo proposto da M. Stanganelli (5), e già applicato su tipi di terreno quali quelli che ci interessano, pur effettuando un'ottima dispersione difficilmente si presta ad un'analisi seriale, perchè molto laborioso e richiede inoltre una velocità di centrifugazione piuttosto elevata con un carico notevole di liquido, quindi un apparecchio che non è di comune dotazione nei laboratori.

È stato infine preso in considerazione il metodo proposto da A. N. Puri (6) al carbonato ammonico. Quest'autore in uno studio sulla determinazione delle basi scambiabili mediante l'impiego di carbonato ammonico, trovò che il calcio di scambio è interamente precipitato come carbonato e sostituito nel complesso dall'ammonio. Servendosi di tale reazione e della successiva facile trasformazione dell'ammonio terreno in sodio o litio terreno, egli descrisse un metodo per la dispersione, che per la sua praticità è sembrato adeguato alle esigenze di cui alla premessa del presente lavoro.

Apparecchio alla pipetta

Tenuto conto delle considerazioni esposte da M. Stanganelli (loc. cit.) si sono passati in rassegna gli apparecchi a pipetta precedentemente descritti.

Essi possono essere suddivisi in due tipi fondamentali. Al primo appartengono gli apparecchi con i quali si eseguono prelevamenti di parti aliquote di sospensione a profondità variabile o fisse mediante pipetta comandata da congegno a cremagliera (apparecchio originale di Robinson) oppure mediante due pipette inserite a varie profondità nel corpo dell'apparecchio (pipetta di Koetgen-Heuser).

Dell'altro tipo sono gli apparecchi come quelli di Esenwein e di Andreasen coi quali si operano prelevamenti alla stessa profondità dopo tempi differenti di sedimentazione. Per ragioni di maneggevolezza e di semplicità si è preferito l'apparecchio di Esenwein al quale sono state apportate alcune modificazioni per una più facile costruzione in serie ed un più pratico uso *.

L'apparecchio adottato (fig. 1) è costituito da un cilindro di vetro del diametro di mm 40-45 e della capacità di 600 cc circa. Ad una certa altezza dal fondo, dipendente dal diametro del cilindro, è saldato un cono di vetro normalizzato e smerigliato nella parte interna. Mediante questo cono è possibile inserire nell'apparecchio l'apposita pipetta da 10 cc mu-

* La costruzione dell'apparecchio è stata affidata alla ditta A. Carosi, Salita del Grillo, 10, Roma.

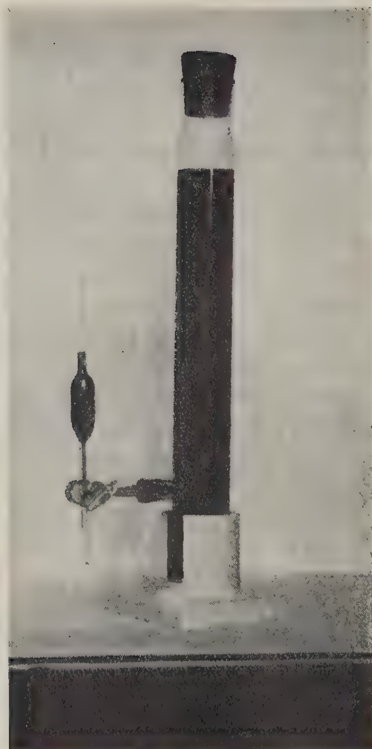


Fig. 1

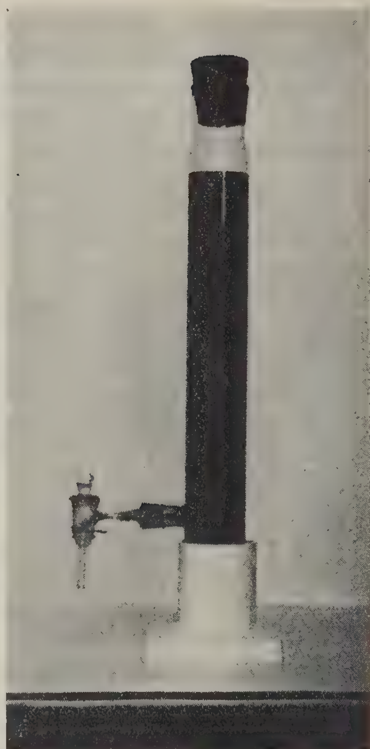


Fig. 2

nita di rubinetto a tre vie, oppure, quando è necessario, un normale tubicino con rubinetto di scarico (fig. 2). Una volta inserito questo rubinetto l'apparecchio può funzionare come un normale cilindro da sedimentazione (es. apparecchio di Appiani).

Sia la pipetta che il rubinetto pescano nel cilindro alla esatta profondità di 25 cm dal livello del volume di 500 cc segnato sul cilindro. A partire dallo stesso segno e fino al livello di pescaggio della pipetta, la distanza è distinta di 5 in 5 cm.

Con la pipetta vengono effettuati i prelevamenti delle frazioni argillosa, argillo-limosa ed eventualmente sabbiosa fine. Il tubetto di scarico serve invece per il lavaggio delle sabbie, una volta eseguiti i primi due prelevamenti, nel caso in cui si voglia procedere alla determinazione diretta di esse.

Il cilindro poggia su uno stativo metallico nel quale è inserito per 4-5 cm.

Espressione dei risultati

Per l'espressione dei risultati dell'analisi meccanica, si è ritenuto non doversi scostare dalla scala proposta da Novak e raccomandata dalla Società Internazionale della Scienza del Suolo, relativa ai diametri delle particelle ed alla velocità di caduta, e qui riportata.

Tabella I

Fraz.	Denominazione	Diametro inferiore a mm.	Velocità di caduta a 20° mm. sec.	Tempi di caduta per una altezza di 10 cm. a 20°C
I	Argilla	0,002	0,00347	8h
II	Limo	0,02	0,347	4' 48"
III	Sabbia fine	0,2	34,7	2"
IV	Sabbia grossa	2,0	3470	

Per temperature differenti dai 20° si sono adottati i fattori di correzione calcolati da E. M. Crowther (7) per i tempi e le altezze di sedimentazione.

Tabella II

t°	Tempi	Altezza
10	1,303	0,767
15	1,136	0,881
20	1,000	1,000
25	0,888	1,127

Descrizione del metodo seriale per l'analisi meccanica del suolo

Determinata l'umidità del campione a 100-105° (a tale scopo si è trovata di uso molto pratico una termobilancia Buhler), si pesa una quota corrispondente a gr 10 di terra secca campionata al vaglio di 2 mm *. Secondo le prescrizioni di Puri, il terreno pesato si pone in un becker

* Gr 10 + $\frac{u \cdot 10}{100-u}$, in cui *u* è l'umidità percentuale del terreno.

da 600 cc contrassegnato al volume di 125 cc e di 250 cc, e vi si aggiungono 250 cc di carbonato ammonico circa normale *, si porta all'ebollizione il liquido e si lascia bollire fino a che il volume si sia ridotto a 125 cc. Durante i primi 10 minuti, se l'ebollizione è tumultuosa è opportuno coprire il becker con un vetro da orologio. Al liquido residuo si aggiungono 5 cc di idrato di litio N/1 e si riporta la sospensione al volume originario di 250 cc mediante aggiunta di acqua bollente. Si riprende quindi l'ebollizione finchè il volume è di nuovo ridotto a 125 cc. La sospensione è così pronta.

Nel caso di terreni salini lo stesso Puri fornisce le seguenti prescrizioni. Dopo la prima evaporazione si aggiungono alla sospensione 100 cc di carbonato ammonico 2 N e si decanta il liquido su un imbuto di Buchner collegato ad una pompa a vuoto. Il terreno decantato è lavato poi con 100 cc di carbonato ammonico 0,2 N, dopodichè è ripreso con 250 cc di acqua coi quali si riporta nel bicchiere il terreno rimasto sul filtro. La sospensione si riscalda quindi all'ebollizione per 10 minuti, si aggiungono 5 cc di idrato di litio N/1 e si continua la ebollizione fino a dimezzamento del volume.

La sospensione del terreno disperso viene travasata nell'apparecchio a pipetta ed il volume portato a 500 cc con acqua distillata, raggiungendosi così l'altezza di 25 cm dal punto di affioramento della pipetta.

Si agita con moto uniforme ed a tale scopo si suggerisce di far compiere al cilindro venti doppi rovesciamenti in un minuto, senza capovolgerlo completamente per evitare la formazione di forti vortici, indi si inserisce nello stativo e si lascia in riposo. Dopo venti ore (per una temperatura ambiente di 20° C), si effettua il primo prelevamento a mezzo della pipetta, agendo sul rubinetto a tre vie. A mezzo dello stesso rubinetto si scarica la frazione prelevata in una capsulina piatta precedentemente tarata, che viene quindi posta ad essiccare in stufa alla temperatura di 100-105° fino a costanza di peso, onde sono sufficienti circa quattro ore. Effettuato il primo prelevamento e dopo aver espulso dalla pipetta ogni goccia di liquido, si agita di nuovo l'apparecchio, con le modalità sopra descritte, e dopo un tempo di sedimentazione di dodici minuti si ripete il prelevamento a mezzo della pipetta scaricando la nuova frazione in altra capsulina tarata che si pone quindi ad essiccare con la prima. Raggiunto il peso costante, le due capsule si pesano.

* Gr 48 di carbonato ammonico cristallizzato, puro per analisi in un litro.

Per l'eventuale determinazione diretta delle sabbie, dopo aver sostituito la pipetta col rubinetto, tenendo il cilindro orizzontale, si riporta al volume di 500 cc la sospensione, si agita l'apparecchio e dopo un tempo di sedimentazione di 12' si apre il rubinetto scaricando la sospensione in un grosso becker. Tale operazione va ripetuta fino a che, trascorso il tempo di sedimentazione, il liquido non risulti praticamente limpido. Il lavaggio delle sabbie ora descritto può anche essere effettuato con tempi di sedimentazione più brevi, riportando il volume della sospensione anzichè a 500 cc e quindi a 25 cm dal punto di affioramento del rubinetto, ad una delle altezze inferiori segnate sull'apparecchio ed adottando il tempo di caduta occorrente *.

Per il calcolo delle percentuali dell'argilla e del limo si applicano le seguenti formule:

Per la frazione argillosa:

$$(a - 0{,}0037) \times 500 = \text{argilla } \%$$

dove *a* rappresenta il peso del residuo secco del primo prelevamento ed il fattore 0,0037 è il peso corrispondente alla quantità di idrato di litio contenuta nei 10 cc prelevati, calcolata come carbonato. Nel caso, più oltre descritto, in cui si adoperi l'idrato di sodio anzichè di litio, il valore da detrarre sarà 0,0053.

Per la frazione limosa:

$$(a - b) \times 500 = \text{limo } \%$$

dove *b* è il peso del residuo secco del secondo prelevamento.

Per il calcolo della percentuale delle sabbie, se queste verranno determinate direttamente, basterà moltiplicare per 10 i pesi relativi trovati, altrimenti si può dedurre la percentuale della sabbia totale, con la differenza da 100 della somma delle percentuali di argilla e di limo.

Parte sperimentale

Sono state omesse prove comparative fra i vari tipi di apparecchi, in considerazione del fatto che già M. Stanganelli (loc. cit.) ha dimostrato con dovizia di dati la superiorità dei tipi alla pipetta.

---

* Per 10 cm = 4'48"; per 15 cm = 7'12"; per 20 cm = 9'36" a 20° C.

Sono invece state eseguite prove comparative fra i metodi: internazionale A, di Vageler ed Alten e di Puri per la dispersione del terreno.

I campioni di terreno sottoposti all'analisi avevano le caratteristiche riportate nella seguente tabella:

Tabella III

N. del campione	Località	pH	Calcare %	Humus %	Tipo di terreno
55588	Cassino	7,5	19,2	2,00	Alluvionale medio-pesante
55591	»	7,6	22,6	2,20	» »
53587	S. Venanzio	6,8	Assente	3,80	Vulcanico mezzano
53588	»	6,8	Assente	1,40	Vulcanico pesante
5930	Canino	7,6	Tracce	5,00	Argilloso umifero su travertino
6080	Paliano	7,6	Tracce	3,40	Terra rossa pesante

Sui campioni 55588 e 55591 (calcarei), e su quello 5930 (ricco di humus) sono state eseguite le determinazioni dei componenti meccanici ponendo a confronto il metodo internazionale A ed il metodo Puri. I risultati sono riportati nella tabella IV.

Sui campioni 53587, 53588 e 6080 sono stati posti a confronto i tre metodi: Internazionale A, di Vageler ed Alten e di Puri. I risultati relativi sono riprodotti nella tabella V.

Tabella IV

Campione n.	Metodo internazionale A			Metodo Puri		
	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za
55588	23,2	24,9	51,8	29,4	26,6	44,0
55591	13,8	34,4	45,6	24,9	36,9	38,2
5930	61,3	16,9	20,8	66,4	13,6	20.0

Tabella V

Campione n.	Metodo internazionale A			Metodo Vageler-Alten			Metodo Puri		
	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za
53587	20,2	30,8	51,0	5,0	23,3	71,7	19,3	35,1	45,6
53588	30,5	29,4	40,1	7,7	21,4	70,9	30,0	32,2	37,8
6080	45,0	26,9	28,1	8,9	21,6	69,5	40,0	30,7	29,3

In ogni determinazione eseguita con il metodo Puri le percentuali delle sabbie ricavate direttamente, previo allontanamento della fase dispersa mediante ripetuti lavaggi, non differivano per più del 2 % da quelle ottenute con il calcolo; tale scarto, insito nei sistemi di separazione per sedimentazione, e dipendente anche dalle variazioni nei contenuti di basi scambiabili nel corso della determinazione, può ritenersi trascurabile per analisi seriali volte a fini pratici.

Posto che, come risulta dalle cifre sopraripportate il metodo Puri fornisce un grado di dispersione equivalente o superiore al metodo internazionale A e notevolmente superiore a quello di Vageler ed Alten nel caso di terreni ricchi di ossidi idrati di ferro e di alluminio dovrebbe essere preferito agli altri al fine di ottenere dati più espressivi della effettiva tessitura fisico-meccanica del suolo; inoltre appare che esso sia in grado di garantire attendibilità di risultati su una più vasta gamma di tipi di suolo. Invero su terreni molto ricchi di ossidi idrati di ferro e di alluminio (ad esempio le terre rosse) il metodo Puri fornisce una dispersione leggermente inferiore a quella del metodo internazionale A. Si è però notato che, facendo seguire in tali casi alla dispersione secondo Puri una agitazione meccanica di un'ora si ottengono dei risultati praticamente uguali a quelli ottenuti col metodo internazionale A.

Il metodo in questione, con gli opportuni adattamenti già descritti, è stato impiegato anche su alcuni campioni molto ricchi di sali solubili (vedi tabella VI). I risultati ottenuti sono stati assai simili a quelli forniti

Tabella VI

Campione n.	Località	pH	Calcare %	Sali solubili ‰
55567	Arabia Saudita	7,0	Assente	70,00
55568	»	7,0	Assente	23,87
55570	»	7,6	Tracce	35,72
55583	»	7,6	Tracce	48,81

dalla dispersione effettuata col metodo di Vageler ed Alten dopo l'asportazione completa dei sali e con notevole economia di tempo.

I dati relativi ai due metodi sono riportati nella tabella VII.

Tabella VII

Campione n.	Metodo Puri			Metodo Vageler-Alten		
	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za
55567	6,3	27,1	59,6	5,9	28,0	59,1
55568	4,7	7,4	85,5	5,0	7,0	85,0
55570	21,4	30,5	44,5	20,5	31,0	44,9
55583	19,0	46,8	29,3	18,3	49,5	27,3

Poichè in alcuni casi potrebbe riuscire conveniente sostituire l'idrato di litio con l'idrato sodico, su alcuni terreni analizzati con il metodo Puri, sopra descritto, è stata ripetuta la dispersione ed il successivo frazionamento usando come disperdente l'idrato sodico. Dal confronto dei risultati ottenuti (vedi tabella VIII) emerge solo una lieve differenza tanto che la sostituzione dell'idrato di litio con il sodico può essere adottata, ove necessaria, senza grave pregiudizio nella rispondenza pratica del referto.

In tal caso tuttavia si usi l'avvertenza di detrarre dal peso della prima frazione, prelevata con la pipetta il valore 0,0053 anzichè quello più sopra riportato, relativo al carbonato di litio.

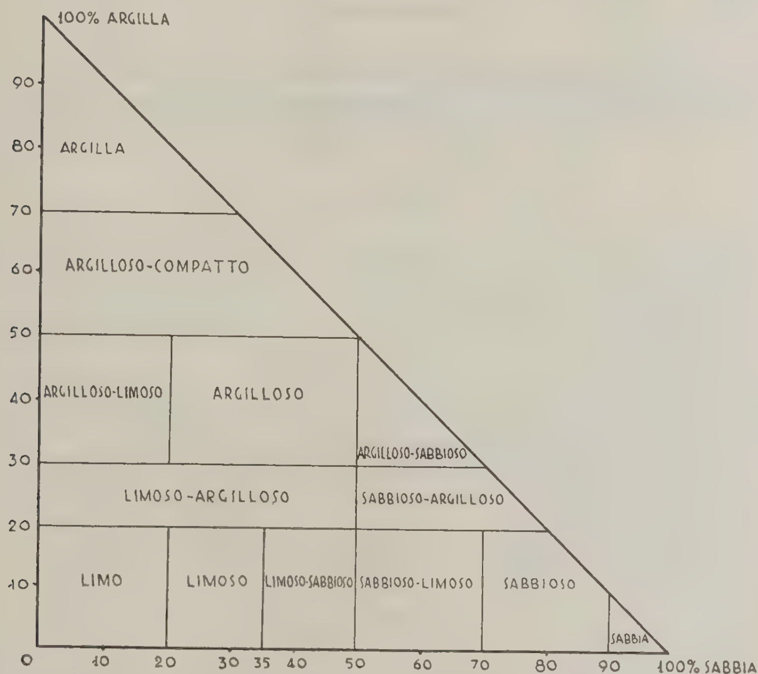
Tabella VIII

Campione n.	Metodo Puri con idrato di litio			Metodo Puri con idrato di sodio		
	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za	Argilla %	Limo %	Sabbie per diff.za
53587	19,3	35,1	45,6	18,6	34,1	47,3
53588	29,4	26,6	44,0	27,2	27,3	45,5
5930	66,4	13,6	20,0	64,0	15,4	20,6
6080	40,0	30,7	29,3	40,9	30,0	29,1

Classificazione del terreno in base all'analisi meccanica

Per la classificazione del terreno in base ai risultati dell'analisi meccanica, eseguita con il metodo descritto, si ritiene di dover denominare argilla e argilloso compatto rispettivamente quei campioni con contenuto di argilla maggiore del 70 %, e compreso fra 50 e 70 %, e sabbia quelli con più del 90 % di sabbia.

Nei casi intermedi si rimanda al grafico qui allegato nel quale è riprodotto il triangolo compilato dal prof. L. Marimpietri ed in uso presso la Stazione chimico-agraria sperimentale di Roma. È ovvio che tale grafico va adoperato con una certa accortezza specialmente nei casi in cui la composizione fisico-meccanica del campione in esame è molto prossima alla costituzione limite dei tipi rappresentati.



Triangolo per la classificazione dei terreni in base ai risultati della analisi meccanica (eseguita col metodo Puri).

RIASSUNTO

Sottolineata la necessità di un metodo rapido, adeguatamente esatto, e di uso generale per l'analisi fisico-meccanica dei terreni, sono stati preliminarmente studiati i procedimenti più noti per la preparazione del campione.

Nella scelta è stato seguìto il concetto di una dispersione il più possibile completa per vari tipi di suolo e di evitare la distruzione di componenti importanti come il calcare e l'humus.

Le prove sperimentali eseguite mediante l'apparecchio alla pipetta di Esenwein, leggermente modificato, hanno dimostrato la bontà del metodo già proposto da A. N. Puri al carbonato ammonico ed idrato di litio o di sodio.

SUMMARY

DETERMINATION OF THE PHYSICAL AND MECHANICAL CONSTITUTION OF THE SOILS IN SERIAL ANALYSIS

by GIUSEPPE GATTORTA

The necessity is underlined for a method for the physical and mechanical analysis of the soil which will be rapid, adequately accurate and for general use, and preliminary studies have been made of the best known procedures for the preparation of samples.

In the choice, the concept has been followed of the most complete possible dispersion for the various types of soil and the avoidance of the destruction of important components like calcium and humus.

The experimental tests followed, using the Esenwein pipette apparatus, slightly modified, have demonstrated the excellence of the method already proposed by A. N. Puri, utilizing ammonium carbonate and lithium hydrate or sodium hydrate.

BIBLIOGRAFIA

(1) PRATOLONGO, U. Sull'analisi fisico-meccanica del terreno. *Staz. Sper. Agr. Ital.*, 1917, vol. 50.

(2) STANGANELLI, M. Pubbl. n. 5 della Staz. Sper. di Granicoltura per la Sicilia. Catania, 1935.

(3) PRATOLONGO, U. Analisi chimico-agrarie. 1952, p. 178.

(4) VAGELER. Der Kationen und Wasseraushalt des Mineralboden. Berlin 1932.

(5) STANGANELLI, M. Pubbl. n. 11 della Staz. Sper. di Granicoltura. Catania, 1943.

(6) PURI, A. N. *Soil Sci.*, 1935, 39, 263.

(7) PRATOLONGO, U. Chimica agraria. 1946, vol. II, p. 31.

Ricevuto il 12 luglio 1952.

ISTITUTO NAZIONALE DI APICOLTURA
(Direttore: Anita Vecchi)
BOLOGNA

Giulia Giordani

ALCUNE OSSERVAZIONI SU LIEVITI RINVENUTI NELL'APPARATO DIGERENTE DI API AMMALATE

1. — Cenni introduttivi

Da tempo è nota l'azione fermentativa esercitata da certi lieviti sul miele; sono stati più volte indagati i fattori che favoriscono l'insorgere della fermentazione ed è stata stabilita la posizione tassonomica dei lieviti medesimi.

Non altrettanto studiati sono i lieviti che spesso rappresentano una parte notevole della flora del tubo digerente delle api. Nutrendosi le api di nettare e di miele, alimenti zuccherini ottimi, specie il primo, anche per i lieviti, la presenza di questi microrganismi nell'intestino * degli insetti è stata quasi sempre interpretata come un fatto normale e non legato a processi patologici.

Diamo ora un rapido sguardo alla letteratura esistente in proposito, letteratura in verità scarsa ed incerta, sia per quello che riguarda i rapporti fra insetto e lievito che l'identificazione sistematica dei lieviti stessi.

La maggior parte degli autori si limita a mettere in evidenza la presenza dei blastomiceti, senza attribuirvi alcun specifico significato.

Il primo ad occuparsi dell'argomento è il Boutroux (3), che descrive superficialmente un certo numero di lieviti isolati dal corpo dell'ape e dai favi. Cheshire (4) descrive in modo sommario parecchi microrganismi simili a lieviti. Lafar (6) afferma di avere isolato dal corpo delle api il *Zygosaccharomyces priorianus*, specie che si rinverrebbe anche nei bombi. White (19) distingue, grosso modo, tre tipi di lieviti trovati nelle api.

Altri studiosi hanno collegato la presenza di lieviti a stadî patologici; così la comparsa di fenomeni diarroici è stata talvolta riferita sia ad

* Il termine intestino è qui usato in senso lato, intendosi in esso comprendere le tre parti fondamentali: stomaco, intestino tenue e retto.

azione diretta di questi funghi sia ad un'azione indiretta, per effetto di alterazioni fermentative del miele ingerito dalle api.

Küstenmacher (9) confuta l'ipotesi che la dissenteria sia dovuta all'ingestione di miele fermentato, non avendo riscontrato presenza di lieviti in api ammalate di diarrea. Toumanoff (17) afferma di aver isolato spesso dallo stomaco e dall'intestino posteriore di api affette da diarrea dei lieviti, appartenenti soprattutto al genere *Torula*; quest'autore ha notato che le api nutrite con sciroppo zuccherino contenente in abbondanza i lieviti isolati morivano più rapidamente e in maggior numero dei testimoni. Anche Borchert (citato da Toumanoff) trova dei lieviti nell'intestino di api affette da diarrea. Betts (2) isola da api, morte per differenti cause, da favi e da polline, molti ceppi di lievito, che descrive senza però identificare; avanza l'ipotesi che forse taluno di questi ceppi, essendo in grado di fluidificare la gelatina e quindi probabilmente di aggredire i tessuti animali (?), potrebbe essere patogeno per le api. Toumanoff (18) riferisce al genere *Torula* dei lieviti isolati da covata ammalata. Moreau (11) studia e descrive una malattia della covata, la « couvain blanche », dovuta ad un lievito da lui non identificato; la malattia, secondo l'autore, può attaccare anche le api adulte.

Non è mancato alfine qualche autore che ha ritenuto utile per gli insetti la presenza di certi lieviti.

Goetze (5) trova che un lievito comunissimo nel nettare, l'*Anthomyces reukauffii*, si rinviene spesso nell'intestino delle api, dove si comporterebbe come un simbionte benefico. Le famiglie che ospitano questo blastomicete sarebbero — afferma l'autore — più sane (migliore costituzione, più intenso allevamento di covata, maggiore attività di raccolta e vita più lunga); in inverno sarebbero meno soggette alla diarrea ed in primavera al mal di maggio.

Nessun aspetto del complesso argomento che mi interessa appare dunque avere ricevuto un apporto sperimentale adeguato.

Una serie di osservazioni che ho avuto occasione di compiere durante il lavoro quotidiano svolto in questo Istituto ha fatto sentire più acuta la mancanza di nozioni precise al riguardo e mi ha indotto ad intraprendere delle ricerche, nell'intento di portare un contributo alla conoscenza di così interessante problema.

È certo che i lieviti che si trovano nell'intestino delle api sono, in parecchi casi, microrganismi del tutto innocui, ingeriti cioè con le sostanze zuccherine, il polline, ecc. ed eliminati rapidamente e regolarmente con gli altri materiali di rifiuto. È molto probabile che essi a volte si moltiplichino nel tubo digerente dell'insetto, morto per cause affatto indipendenti dalla presenza del blastomicete.

Queste interpretazioni non sembrano però sempre valide: fra i tanti campioni che giungono all'Istituto Nazionale di Apicoltura da ogni parte d'Italia ho avuto spesso occasione di esaminare api ammalate che, pur presentando la sintomatologia più o meno comune a tutte le malattie dell'ape adulta (incapacità al volo, addome rigonfio, movimenti convulsivi del corpo, ecc.), agli accertamenti di laboratorio non risultavano colpite nè dalle note malattie parassitarie, nè da affezioni di altro genere, nè da avvelenamento; si notava però, unico fatto anormale, la presenza nell'intestino di una enorme quantità di lieviti.

Questi reperti si sono moltiplicati e la relativa casistica è divenuta notevole (un centinaio di casi dal 1935 al 1948), così da rendere fondata la ipotesi che i lieviti, o meglio alcuni fra di essi, non siano del tutto privi di azione patogena verso le api.

L'interesse per l'argomento è stato inoltre acuito da talune analogie riscontrate sia nei riguardi dell'aspetto morfologico dei lieviti sia nei riguardi delle condizioni della comparsa del fenomeno. Sono stata infatti sorpresa dalla uniformità morfologica dei lieviti rilevati nei diversi casi, uniformità che è risultata tanto più evidente in quanto i blastomiceti erano caratterizzati in prevalenza da una inconsueta piccolezza delle cellule. Tutti i dati in mio possesso si riferiscono poi ad osservazioni effettuate nei mesi di gennaio e febbraio e, in minor misura, in quelli di marzo ed aprile, durante cioè o subito dopo l'annuale periodo di clausura cui le api sono sottoposte nel nostro clima. Il fenomeno si è quasi sempre manifestato negli inverni molto rigidi o piovosi, quando le api sono state costrette a lunghi periodi di permanenza nell'alveare, non interrotti da voli di purificazione.

Queste osservazioni hanno suggerito l'ipotesi che l'eventuale patogenicità dei lieviti sia strettamente legata alle condizioni ambientali ed alla possibilità dei fungilli di rimanere a lungo in contatto con le cellule intestinali delle api, fattori d'altra parte che rivestono importanza preminente in tutte le malattie di questi insetti.

2. — Prove di infezione sperimentale

Nella primavera del 1948 è stata iniziata una sistematica serie di isolamenti *, secondo la comune prassi microbiologica, da tutti i campioni di api, numerosi in quell'anno, che presentavano le caratteristiche sopra accennate. Sono stati così ottenuti, e mantenuti poi in collezione, parecchi

* L'intero tubo digerente è stato usato come materiale d'inoculo.

ceppi di lievito, dei quali sono state investigate le principali caratteristiche morfologiche ed attività fisiologiche.

In base a criteri di frequenza e ad analogie morfologiche (cfr. Cenni introduttivi) sono stati scelti tre ceppi, indicati con i numeri 93, 95 e 100, con i quali furono iniziate le prime prove di infezione sperimentale. Di questi tre ceppi il primo, caratterizzato da una eccezionale piccolezza delle cellule, era quello riscontrato con maggiore frequenza e fu isolato in quell'anno da tre campioni di api ammalate, provenienti da località diverse (Torino, Padova e Ravenna).

Le difficoltà notevoli che sempre si incontrano in ricerche sperimentali di tale natura sono in questo caso rese più ardue dalle stesse caratteristiche biologiche dell'insetto allo studio. Trattandosi di insetti sociali, che non possono essere tenuti isolati, viene a mancare la possibilità, come è stato fatto per altri insetti: *a*) di alimentare un singolo individuo con il controllo microbiologico degli alimenti (quantità dell'inoculo, ecc.); *b*) di studiare il comportamento dei microrganismi introdotti nell'apparato digerente (entità della moltiplicazione, variazione nelle proprietà fisiologiche, ecc.); *c*) di valutare quantitativamente l'emissione dei germi attraverso il normale processo di defecazione. Questo non solo perchè le api non possono essere tenute isolate, ma anche perchè, come è noto, in condizioni normali defecano solamente durante il volo.

È necessario perciò operare su interi alveari, somministrando i microrganismi per via orale, attraverso l'alimento.

Risultati definitivi sui singoli aspetti del complesso problema potranno essere raggiunti soltanto mediante una elaborazione statistica del maggior numero possibile di osservazioni; mi limito per ora ad esporre i risultati di prime osservazioni eseguite, riservandomi di approfondire l'argomento in successive ricerche.

Nel novembre del 1948, e cioè nel periodo stagionale ritenuto, per le ragioni sopra esposte, il più adatto, furono effettuati, a scopo orientativo, i primi tentativi di infezione sperimentale. A tale fine furono scelti 10 alveari, circa della stessa potenza numerica e con la stessa quantità di provviste, posti alla distanza di 3 metri l'uno dall'altro. Particolare cura fu rivolta ad indagare se nell'apparato digerente delle api non fossero già presenti specie di lievito riferibili a quelle cui appartenevano i ceppi allo studio; numerosi isolamenti in malto-agar, effettuati inoculando il contenuto intestinale di un centinaio di api di ciascun alveare, fecero rilevare la presenza di rarissime forme blastomicetiche, nessuna delle quali riconoscibile come identica ai ceppi scelti per la sperimentazione. Da ciascuna famiglia furono inoltre prelevate un centinaio di api, che vennero introdotte in arniette sperimentali ed ivi mantenute in clausura ed alimentate,

a mezzo di nutritori, con sciroppo zuccherino; in tali condizioni anormali di vita le api perirono in un tempo variabile fra i 15 ed i 20 giorni. Le prove culturali, eseguite subito dopo la morte degli insetti, non fecero rilevare nè un aumento numerico delle forme blastomicetiche già presenti nell'intestino nè la comparsa di forme riferibili ai ceppi nn. 93, 95 e 100.

Due dei 10 alveari scelti furono infettati con il ceppo n. 93, due con il ceppo n. 95, due con il ceppo n. 100, due con un ceppo di *Saccharomyces cerevisiae* e due tenuti come controllo. L'inoculazione del *S. cerevisiae*, blastomicete ben noto per le sue caratteristiche ed assolutamente non patogeno, fu fatta per avere un ulteriore termine di confronto e di controllo.

I lieviti vennero somministrati per via orale, in sciroppo zuccherino tiepido, al 35 %, in cui venivano direttamente sospese culture di 4 giorni di età in malto-agar, in modo da ottenere circa un milione di cellule per cc. (numero valutato al contaglobuli Zeiss). In totale sono stati somministrati ad ogni famiglia tre litri di sciroppo, un litro per volta e con intervallo di 3 giorni tra una somministrazione e l'altra, per dar tempo alle api di immagazzinare il nutrimento. Ai due alveari di controllo fu fatto un trattamento perfettamente analogo, con somministrazione di sciroppo zuccherino semplice.

Durante l'inverno 1948-49, che decorse piuttosto mite, con frequenti giornate di sole in dicembre, gennaio e febbraio, sicchè le api poterono uscire spesso, si valutò accuratamente, a regolari intervalli di tempo, il numero delle api morte in ciascun alveare; il loro contenuto intestinale fu esaminato al microscopio e da esso effettuati isolamenti in malto-agar. Di tanto in tanto furono prelevate dai diversi alveari api vive ed il loro apparato digerente esaminato come sopra e fatto oggetto di isolamento.

La mortalità è stata in genere limitata, risultando però superiore nei due alveari inoculati con il ceppo n. 93.

L'esame del contenuto intestinale delle api morte fece rilevare il seguente fatto degno di nota: l'80 % circa degli individui appartenenti agli alveari infettati con il ceppo n. 93 presentava un'abbondante flora blastomicetica che, alle prove culturali, si dimostrò costituita nella sua totalità da cellule appartenenti alla specie inoculata. Nel contenuto intestinale delle api appartenenti agli altri alveari si notarono rarissime cellule di lievito e, per di più, non riferibili alle specie inoculate.

Nel tubo digerente delle api vive fu rilevata, in tutti i casi, una flora blastomicetica scarsamente rappresentata; soltanto dall'intestino delle api degli alveari infettati con il ceppo n. 93 fu comunque possibile il reisolamento del ceppo originale.

Se questa prima prova non ha, da un lato, fatto riscontrare una mortalità notevolmente superiore nelle famiglie inoculate con ceppi di lievito rispetto a quelle testimoni, ha d'altra parte messo in evidenza un fatto che mi è sembrato di importanza non trascurabile ai fini della ricerca intrapresa: soltanto le cellule del ceppo n. 93, una volta introdotte nell'apparato digerente delle api, non solo hanno mantenuto la loro vitalità, ma hanno trovato un ambiente adatto alla loro moltiplicazione (cellule gemmanti sono state rilevate in gran numero). Ciò sta ad indicare che i rapporti esistenti fra le cellule di questo lievito e le api sono diversi da quelli di una semplice convivenza accidentale, come sembra essere il caso degli altri ceppi di lieviti studiati.

Nella tarda primavera del 1949 si tentò un esperimento su 10 nuclei (ciascuno formato da tre telaini con regina), preparati da famiglie non precedentemente inoculate. A 8 nuclei fu somministrato sciroppo zuccherino mescolato con gli stessi ceppi di lievito della prova precedente; due furono tenuti come testimoni. La somministrazione di sciroppo (150 cc per volta), nelle solite proporzioni e con le consuete modalità, fu fatta per due settimane, ad intervalli di 3 giorni. L'esperimento fu iniziato i primi di giugno e terminò in ottobre, quando la stagione ne impedì il proseguimento; nei nuclei inoculati non si notò mortalità anormale. Mentre nell'intestino delle api vive, catturate subito dopo la inoculazione, si rinvennero notevoli quantità di lieviti, rispettivamente dei diversi ceppi somministrati, in tutto il periodo seguente, e cioè da fine giugno a fine ottobre, non si notarono lieviti di sorta; i voli giornalieri avevano evidentemente permesso la rapida eliminazione dei blastomiceti ingeriti, a qualunque ceppo essi appartenessero.

Le prove furono riprese nel novembre dello stesso anno con il solo ceppo n. 93, in base ai risultati delle precedenti esperienze.

L'infezione fu praticata secondo le modalità già descritte: furono scelti tre nuovi alveari, di cui uno inoculato con ceppo n. 93, uno con *S. cerevisiae* ed uno tenuto come controllo. Durante l'inverno, che trascorse più rigido del precedente, ma tale tuttavia da permettere frequenti voli alle api, si ripeterono indagini analoghe a quelle riferite, con risultati analoghi ai precedenti. La mortalità fu soltanto leggermente superiore a quella rilevata nell'inverno precedente ed in ogni caso sempre più elevata nella famiglia cui era stato somministrato il ceppo n. 93.

Durante l'estate gli alveari furono tenuti sotto osservazione: non si notò mortalità e gli accertamenti microscopici e le prove culturali, eseguite ogni 20 giorni sugli intestini di api vive prelevate dai diversi alveari, diedero sempre risultati negativi.

In autunno si procedette all'esame microbiologico e chimico del miele immagazzinato negli alveari; soltanto nel miele della famiglia infettata con ceppo n. 93 si rilevò la presenza di rarissime cellule di lievito, il cui aspetto morfologico (contenuto fortemente vacuolizzato, assenza di gemmazione, ecc.) fece ritenere che fossero non vitali o, per lo meno, in condizioni di quiescenza. Alcuni campioni di tale miele vennero allora diluiti in parti uguali con acqua sterile e tenuti ad una temperatura di 25°; dopo 30 ore divennero tutti sede di una intensa vegetazione blastomicetica, che alle prove culturali si rilevò costituita nella sua totalità da cellule del ceppo n. 93. Il miele si dimostrò perfettamente normale dal punto di vista chimico.

La presenza nel miele di cellule vitali del ceppo n. 93, somministrato l'anno precedente, indusse a prolungare le osservazioni anche durante l'inverno 1950-51, senza intervenire con ulteriori inoculazioni.

All'invernamento tutte le famiglie apparivano forti e popolose, con parecchie provviste ed in ottime condizioni generali. L'inverno fu lungo, piovoso e costrinse le api a lunghi periodi di clausura raramente interrotti. La mortalità si mantenne bassa nelle diverse famiglie fino a metà febbraio, ma si verificò ciò che si prevedeva: nel tubo digerente delle api morte e di alcune vive appartenenti all'alveare inoculato l'anno precedente con il ceppo n. 93 si rinvenne regolarmente, in quantità più o meno notevoli, questo lievito, mentre il contenuto intestinale delle api delle altre famiglie risultò privo di forme blastomicetiche. Dalla metà di febbraio alla metà di marzo le api furono costrette a rimanere ininterrottamente dentro gli alveari: alla visita effettuata al termine di questo periodo si rilevò che le famiglie testimoni si trovavano in ottime condizioni, con minima normale mortalità, mentre la popolazione della famiglia infettata con il ceppo n. 93 era praticamente distrutta.

Il maggior numero delle api morte e morenti fu sottoposto ad accuratissime indagini di laboratorio e nulla si riscontrò che potesse giustificare una simile, totale mortalità: l'unico carattere anormale era costituito dalla presenza di una quantità enorme di lieviti, in attiva moltiplicazione, nell'intestino di tutte le api esaminate, quelle già morte e quelle ancora in vita. Le prove culturali dimostrarono che si trattava di cellule del ceppo n. 93.

Ci si ritrovò così di fronte ad un quadro patologico perfettamente identico a quello presentato dalle api da cui, tre anni prima, i lieviti del ceppo n. 93 erano stati isolati e presentato da tanti altri campioni di api sottoposti agli accertamenti diagnostici in questo laboratorio durante gli anni precedenti.

3. — Identificazione del ceppo di lievito n. 93*

Quanto è stato riferito in precedenza circa le prove di infezione sperimentale è valso a suscitare un particolare interesse nei riguardi del ceppo di lievito n. 93: è sulla probabile posizione sistematica di tale ceppo che si riportano qui i risultati di alcune indagini preliminari.

La tecnica seguìta per lo studio delle principali caratteristiche morfologiche e fisiologiche del blastomicete è sostanzialmente quella riferita da Stelling-Dekker (15) e da Lodder (8).

Coltura in infuso di malto

Lo sviluppo in infuso di malto (15° Balling), alla temperatura di 25° C, è in complesso scarso: dopo 48-72 ore si nota un piccolo deposito, sciolto, non aderente al fondo del recipiente e che rimane tale anche con l'invecchiamento della cultura. Dopo 14-15 giorni si comincia a rilevare la formazione di un lieve anello, non risalente lungo le pareti del recipiente e facilmente disperdibile all'agitazione. Non compaiono mai tracce di velo o di isolotti. Dopo 24 ore di sviluppo in infuso di malto le cellule appaiono completamente sferiche, di dimensioni medie pari a 2,8 μ (dimensioni minime osservate: μ 2,2; massime: μ 3,5). La germinazione si manifesta talora con la comparsa di una unica blastula, talaltra con la formazione, in un solo punto della cellula, di 2 o 3 gemme molto ravvicinate. Le cellule, il più delle volte, sono isolate o riunite in gruppetti, costituiti al massimo di due o tre elementi. Non si rilevano cellule di forme diverse dalla sferica ed abbozzi di pseudomicelio. In culture più vecchie si notano a volte cellule di forma leggermente ovale, ma in numero molto limitato. Nessun odore caratteristico emana dalla cultura in substrato liquido.

Coltura in malto-agar

L'aspetto morfologico delle cellule sviluppate in malto-agar non differisce sensibilmente da quello delle cellule sviluppate in infuso di malto. La superficie della cultura è liscia, brillante, a bordo intero ed appena rilevata nella parte mediana. La patina non è di consistenza vischiosa

---

* Le prove di identificazione del blastomicete sono state eseguite in collaborazione con il dott. V. Scardovi, assistente nell'Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica dell'Università degli Studi di Bologna, a cui esprimo il mio vivo ringraziamento.

e presenta un colore identificabile, secondo il codice di Ridgway (12), con il termine « avellaneous » (cfr. tabella XL del codice). Pigmenti carotinoidi assenti.

Nelle culture in malto-agar lasciate invecchiare (40-50 giorni) non si notano nè cellule giganti nè cellule capsulate, ma soltanto cellule con normale degenerazione lipoidica del contenuto.

Formazione di pseudomicelio

Alla ricerca della eventuale formazione di pseudomicelio è stata rivolta particolare attenzione, costituendo tale carattere un elemento di grande importanza nella tassonomia dei lieviti asporigeni (vedi oltre). Si è seguìto sia il metodo suggerito da Talice (16), cioè cultura in decotto di patata seguìta da alcuni passaggi successivi in tale substrato, sia il metodo di Rivalier e Seydel (13). Non è stata osservata alcuna traccia di formazioni pseudomiceliali.

Formazione di ascospore

È stato seguìto il classico metodo di Hansen, la semina in agar Gorodkowa ed il metodo di Lindegren (7). Non essendosi rilevata con alcuno dei metodi indicati formazione di ascospore, sia all'esame microscopico a fresco sia all'esame di preparati colorati (particolarmente utili data la piccolezza delle cellule), il ceppo di lievito studiato si ritiene asporigeno.

Attività fermentativa

Nei saggi effettuati sia con tubi di Smith che con tubi Durham non si è verificata la più piccola attività fermentativa, onde si può affermare che il ceppo n. 93 non si comporta da fermento alcoolico verso alcuno zucchero.

Utilizzazione degli zuccheri

Tra i carboidrati sono stati saggiati, con il metodo auxanografico classico di Beijerinck, il destrosio, il galattosio, il saccarosio, il lattosio ed il maltosio; soltanto il destrosio ed il saccarosio hanno fornito risultati positivi.

Assimilazione dell'azoto

Si è ricorso per questa ricerca al metodo auxanografico e si sono inoltre allestite serie parallele di tubi di cultura con un substrato base costituito da: destrosio, fosfato monopotassico, solfato di magnesio ed estratto di lievito (quest'ultimo per fornire i fattori di crescita indispensabili allo sviluppo, in quantità però tale da permettere solo uno sviluppo appena percettibile in assenza di appropriata fonte di azoto). A questo substrato base si sono aggiunti, separatamente e nelle concentrazioni consigliate dalla Lodder (loc. cit.), solfato ammonico, nitrato potassico, urea, asparagina e peptone.

Ad eccezione del nitrato potassico, non utilizzato, tutti gli altri composti si sono mostrati ottime fonti di azoto per il ceppo n. 93.

Alcool etilico come fonte di carbonio

In colture in substrato liquido (per la composizione, cfr. Lodder, loc. cit.), contenente variabili quantità di alcool etilico, non si sono rilevate che piccole tracce di sviluppo, ciò che sta ad indicare la impossibilità, da parte del lievito, di utilizzare alcool etilico come fonte di carbonio per le sintesi protoplasmatiche.

Produzione di sostanze amilosio-simili

Si è voluto accertare l'eventuale produzione extracellulare di sostanze amilosio-simili, colorabili in bleu con lo iodio, perchè recenti studi (1) (10) hanno posto in evidenza come tale facoltà sia una caratteristica distintiva di alcune soltanto delle specie ora incluse nel genere *Torulopsis*, rappresentando perciò per tale genere [al quale (vedi avanti) il ceppo n. 93 è indubbiamente da riferirsi] un carattere di indubbio valore tassonomico. Si è usato per questo saggio un substrato analogo a quello impiegato dallo Scardovi (14); la perfusione della patina di diverse età di sviluppo, effettuata con soluzione iodo-iodurata, ha condotto a stabilire che il ceppo studiato non è un lievito amilogeno.

La mancanza di ascospore e l'assenza di pigmenti carotinoidi inducono il riferimento del ceppo di lievito studiato alla famiglia *Torulopsidaceae*, mentre l'assenza di formazioni pseudomiceliali ne giustifica l'inclusione nella sottofamiglia *Torulopsidoideae*, genere *Torulopsis*.

Secondo Lodder (loc. cit., p. 181), l'assenza di potere fermentativo verso gli zuccheri, la non assimilabilità dell'azoto nitrico, la mancata

formazione di patine vischiose in malto-agar e l'utilizzazione, come substrato metabolizzabile nei processi respiratori, di altri carboidrati oltre al glucosio sarebbero elementi tassonomici tali da indurre il riferimento del ceppo alla specie *Torulopsis candida* (Saito) Lodder.

In qualche carattere tuttavia il ceppo n. 93 differisce dalla *T. candida*: le sue cellule presentano dimensioni decisamente inferiori (media μ 2,8 in confronto a μ 3-5 delle cellule della *T. candida*); il colore della patina in malto-agar è nettamente diverso. La differenza più notevole sta tuttavia in questo: mentre la *T. candida* utilizza per il metabolismo respiratorio gli zuccheri destrosio, saccarosio, galattosio, maltosio e lattosio, il ceppo n. 93 può utilizzare soltanto i primi due degli zuccheri sopra ricordati.

Seguendo lo schema di classificazione citato la specie di lievito asporigeno isolata dall'intestino delle api non troverebbe dunque, fra quelle comprese nel genere *Torulopsis*, alcuna specie con la quale pienamente identificarsi. Non sembra però opportuno proporre il ceppo di lievito n. 93 come specie nuova perchè, allo stato attuale della sistematica dei lieviti asporigeni, malgrado il contributo notevolissimo di ricercatori quali Lodder e Diddens, la creazione di nuove specie aumenterebbe anzichè diminuire la già notevole incertezza che caratterizza tale materia.

Credo sufficiente per ora aver riferito circa i principali caratteri morfologici e fisiologici della specie di lievito isolata, riservandomi di approfondire, con ulteriori ricerche sperimentali, le conoscenze circa il suo biochimismo, allo scopo di chiarire, possibilmente, i complessi rapporti tra questo lievito asporigeno e l'insetto ospite.

4. — Conclusioni

I risultati fino ad ora ottenuti e riferiti in questa nota non permettono conclusioni definitive circa i vari aspetti di un così complesso problema.

Non è però ingiustificato affermare:

a) il ceppo di lievito n. 93 sembra esplicare nei riguardi delle api una certa azione patogena;

b) tale azione si manifesta strettamente subordinata ad una serie di fattori, non sempre realizzabili nelle condizioni sperimentali. Da un lato, la clausura delle api per un tempo sufficientemente lungo sembra essere uno dei fattori principali, ma non è possibile escludere a priori che i risultati indubbiamente positivi ottenuti nel 1951 non dipendano anche da una maggiore virulenza delle cellule del ceppo n. 93, acquisita durante la

permanenza nel miele o durante il passaggio attraverso il tubo digerente di più generazioni di insetti;

c) il principale vettore dei lieviti è costituito, con ogni probabilità, dal miele, in cui le cellule blastomicetiche rimangono quiescenti fino al momento in cui vengono ingerite dall'insetto;

d) la infezione blastomicetica non è accompagnata da fenomeni di diarrea, come è stato osservato da altri autori nel caso di infezioni di tipo apparentemente analogo;

e) le prove diagnostiche per il riconoscimento sistematico del ceppo di lievito n. 93 hanno portato a stabilire che si tratta di una specie del genere *Torulopsis*, specie che non sembra identificarsi con alcuna di quelle finora descritte.

RIASSUNTO

Parecchi ceppi di lievito sono stati isolati dal tubo digerente di api ammalate. Poichè l'unico riconoscibile carattere anormale presentato da questi insetti consisteva in una abbondantissima flora blastomicetica intestinale, si è cercato di provocare sperimentalmente la infezione, somministrando per via orale, in sciroppo zuccherino, i singoli ceppi isolati a famiglie sane di api.

Uno di questi ceppi, il n. 93, è stato riconosciuto dotato di particolari proprietà; quando le condizioni ambientali sono favorevoli (specialmente temperature basse durante l'inverno che obbligano le api a lunghi periodi di clausura) questo ceppo è l'unico le cui cellule si moltiplicano abbondantemente nel tubo digerente delle api, causando sempre una mortalità più elevata nelle famiglie infettate rispetto a quelle testimoni o inoculate con altri ceppi di lievito. In un caso particolare si è verificata la mortalità totale della famiglia infettata.

Nulla è possibile dire, per ora, sul reale meccanismo della patogenicità di questo ceppo di lievito.

La infezione blastomicetica, contrariamente a quanto riportato da altri autori in casi apparentemente simili, non è accompagnata da fenomeni diarroici.

Il ceppo n. 93 è stato riconosciuto, alle prove diagnostiche, come appartenente al genere *Torulopsis*; si è ritenuto tuttavia che le sue caratteristiche fisiologiche, benchè diverse da quelle delle specie incluse nel genere suddetto, siano insufficienti per stabilire una nuova specie.

SUMMARY

SOME OBSERVATIONS ON YEASTS ISOLATED FROM THE DIGESTIVE TRACT OF DISEASED BEES

by Giulia Giordani

Several yeast strains have been isolated from the digestive tract of bees suffering from a disease of unknown nature. The presence of an utterly abundant yeast flora in the digestive tract being the only constant and detectable abnormal character, attempts have been made to cause experimental infection by feeding healthy bee colonies with the isolated yeast strains, suspended into sugar sirup.

Strain No. 93 proved to be endowed with distinctive properties; when environmental conditions are favorable (especially the low temperatures during the winter confining the bees to the hives for long periods) this strain is the only one which develops profusely in the digestive tract of bees, always causing a more pronounced mortality of infected colonies in comparison with other yeast strains tested. In one particular case the entire colony has been destroyed.

Nothing can be said so far concerning the actual traits of the pathogenic action of the yeast strain.

It is noteworthy that no sign of dysentery accompanies this yeast infection, a character not shared by apparently similar cases reported so far.

Strain No. 93 has been recognized as belonging to the genus *Torulopsis*; its physiological characters, though quite different from those of the species here included, have been considered insufficient for the establishment of a new species.

BIBLIOGRAFIA

(1) Aschner, M., Mager, J., and Leibowitz, J. *Nature*, 1945, 150, p. 256.

(2) Betts, A. *The Bee World*, 1928, 9, pp. 108-137-154.

Betts, A. *The Bee World*, 1929, 10, p. 33.

(3) Boutroux, L. *Bull. Soc. Linn. Normandie*, 1881, 5, p. 120.

Boutroux, L. *Bull. Soc. Linn. Normandie*, 1883, 7, p. 73.

Boutroux, L. *Ann. Sci. Naturelles*, 1884, sér. 6, 17.

(4) Cheshire, F. R. Bees and beekeeping. 1887, 2, p. 569.

(5) Goetze, G. *Deutsch. Imkerfürher*, 1942, 16, S. 125.

(6) Lafar, R. Technische Mykologie, 1905-07, 4.

(7) Lindegren, C. C., and Lindegren, J. *Jour. Bact.*, 1943, 46, p. 405.

(8) Lodder, J. Die Hefesammlung des « Centraalbureau voor Schimmelcultures », II. Teil, Die anaskosporogenen Hefen. Amsterdam 1934.

(9) Küstenmacher, M. *Centr. f. Bakt.*, 1909, 24, S. 58.

(10) Mager, J., and Aschner, M. *Jour. Bact.*, 1947, 53, p. 283.

(11) Moreau, R. *L'Apiculteur*, 1949, 93, p. 70.

(12) Ridgway, R. Color standards and color nomenclature. Washington, 1912.

(13) Rivalier, E., et Seydel, S. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 1932, 40, p. 181.

(14) Scardovi, V. *Ind. Saccar. Ital.*, 1948, 41, p. 3.

(15) Stelling-Dekker, N. M. Die Hefesammlung des « Centraalbureau voor Schimmelcultures », I. Teil, Die sporogenen Hefen. Amsterdam 1931.

(16) Talice, R. V. *Ann. Parasitol.*, 1930, 8, p. 394.

(17) Toumanoff, C. Les maladies des abeilles. Paris, 1951, p. 155.

(18) Toumanoff, C. *Rec. Méd. Vét. Alfort*, 1927, 103, p. 367.

(19) White, G. F. Bacteria of the apiary. *U. S. Dept. Agr., Bureau of Ent., Techn. Series No. 14*, 1906.

Ricevuto il 12 luglio 1952.

ISTITUTO SPERIMENTALE ZOOTECNICO
(Direttore: Bartolo Maymone)
ROMA

B. Maymone, E. Petrucci e M. Tiberio

RICERCHE SULLA PRODUTTIVITÀ E SUL VALORE NUTRITIVO DI UNA POLIGONACEA DELLA FLORA SPONTANEA, RESISTENTE ALLA SICCITÀ: *POLYGONUM ROMANUM* JACQ.*

Sommario. — 1. Premessa. - 2. Caratteri botanici del *Polygonum romanum* Jacq. - 3. Diffusione e produttività. - 4. Composizione chimica. - 5. Digeribilità. - 6. Metabolismo dell'azoto. - 7. Energia metabolizzabile. - 8. Valore nutritivo. - Riassunto. - Summary.

1. - Premessa

In ripetute osservazioni fatte sui prati naturali e pascoli della sede sperimentale dell'Istituto (azienda Tor Mancina della superficie di ha 1240) e su altri prati e pascoli della campagna romana si notò che, nella stagione estiva avanzata (agosto, settembre), il *Polygonum romanum* Jacq. presentava dappertutto, in contrasto con l'aspetto appassito della generalità delle altre essenze foraggere spontanee, ricca fogliatura e colore verde cupo. Si vide anche che sui prati e pascoli brulli e sulle prode delle strade era ricercato dal bestiame pascolante (ovini e bovini) per cibarsene, mentre l'aspetto ed il comportamento strisciante delle piante lasciavano supporre che si trattasse di un'essenza dotata di scarsissimo valore nutritivo.

In conseguenza delle osservazioni fatte e, data la scarsità di essenze foraggere resistenti alla siccità, si cercò d'indagare la diffusione del *P. romanum* Jacq. in prati e pascoli della regione, la sua produttività, la composizione chimica ed il valore nutritivo allo scopo di desumere l'apporto di sostanze nutritive che nella stagione estiva l'essenza può fornire all'alimentazione del bestiame, nonchè la convenienza o meno di segnalarla, per elevarne la produttività, agli Istituti specializzati per il miglioramento genetico delle piante.

* Una nota riassuntiva di questo lavoro è stata presentata alla Conference for the improvement of pasture and fodder production in the Mediterranean area (Roma, 1951).

2. - Caratteri botanici del *P. romanum* Jacq.

Il *P. romanum* Jacq. è una pianta perenne che vegeta spontanea nel bacino mediterraneo. La letteratura lo ricorda diffuso nella Francia meridionale e nell'Italia centro-meridionale dalla zona litoranea a quella montana. Non ha decise esigenze nei riguardi della costituzione e della giacitura dei terreni e si rintraccia tanto nelle formazioni segetali che in quelle prative e pascolative. Nelle prime, a seconda delle vicissitudini stagionali, si diffonde e si sviluppa abbondantemente, mentre nelle seconde si presenta di dimensioni più ridotte, e solo in terreni poveri di profilo prende qualche volta la funzione di essenza dominante sino a diffondersi in placche monofitiche. Inizia il suo ciclo vegetativo in primavera (2ª-3ª decade di marzo) e raggiunge il massimo sviluppo nei mesi estivi. Il periodo d'antesi inizia alla metà d'estate ed ha il suo massimo nella prima parte dell'autunno. Durante l'inverno le piante entrano in stasi vegetativa, trasformano gli steli da semi-erbacei a legnosetti e perdono gran parte delle numerose foglioline.

La radice è fittonante e, trattandosi di essenza perenne, le sue dimensioni variano a seconda dell'età della pianta, per cui esile e fragile nel primo anno, nei successivi si ingrossa e diventa di consistenza legnosa.

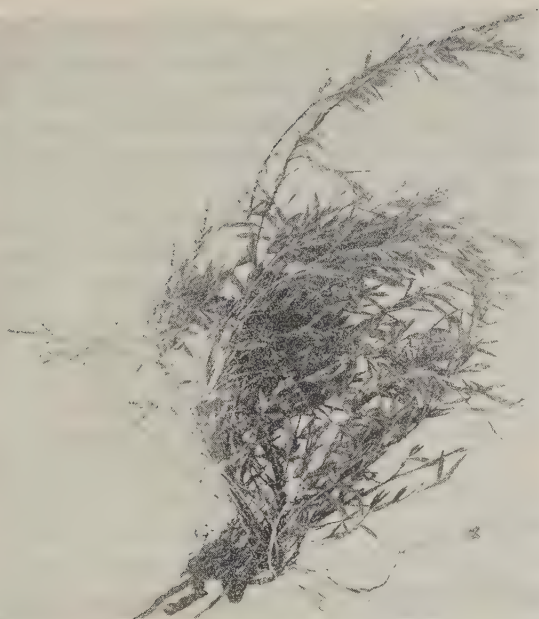
I fusti forniti d'internodi si dispongono a raggera intorno al colletto assumendo portamento prostrato nella normalità dei casi, e raramente mutano questa loro tipica disposizione nelle zone molto erbose.

Il loro sviluppo è regolato, come in tutte le essenze, dalla feracità e dalle condizioni fisiche del suolo: minimo nei terreni poveri superficiali diventa considerevole nei terreni fertili ed in special modo nelle stoppie dove i fusti raggiungono alcune volte la lunghezza di un metro.

I fusti sono, inoltre, provvisti di ramificazioni che si fanno più brevi e più numerose verso l'apice con internodi coperti da guaine opache e lacere. Essi si mantengono semi-erbacei sino all'inizio della antesi poscia iniziano un lento processo di lignificazione che procede dal colletto all'apice.

Il *P. romanum* Jacq. pur essendo una pianta a vegetazione estiva, è ricco di foglie lanceolate lineari di colore verde intenso, brevemente picciolate.

Le foglie basilari si disseccano e si disarticolano durante il processo di lignificazione, mentre le apicali persistono sino a tutto il periodo della stasi invernale.





Polygonum romanum Jacq. nato spontaneamente da semi caduti in parcella coltivata nell'annata 1950–51. (Foto eseguite il 6–V–52 a Tor Mancina).

La fioritura inizia alla metà di agosto e si protrae sino ai primi di novembre. I fiori sono isolati o riuniti in mazzetti composti da due sino a quattro fiori bianchi o rossi, a volte porporini alla base.

Il seme, la cui maturazione si compie nella seconda metà dell'autunno, appare incapsulato in una guaina a tre facce, leggermente contorta, ingrossata alla base e allungata all'apice.

La guaina risulta pigmentata in verde all'apice, mentre nella restante parte mostra striature e punteggiature di colore rosso-vinoso. Morfologicamente il seme è un achenio molto più piccolo della guaina nella quale trovasi incapsulato, liscio, affusolato, di colore vario dal verde al rosso-vinoso.

3. - Diffusione e produttività del *P. romanum* Jacq.

Le indagini sulla diffusione del *P. romanum* Jacq. nelle formazioni botaniche dei prati e pascoli della campagna romana furono compiute in vari appezzamenti di terreno della già citata sede sperimentale dell'Istituto. Fu inoltre sottoposta a controllo ponderale la produzione foraggera di questa essenza nella fase vegetativa prefiorale ricavata da superfici scelte

Tabella I

Densità delle piante di *P. romanum* Jacq. per unità di superficie, lunghezza media dei fusti, peso delle piante, produttività rapportata ad ha

N. delle prove	Nome dell'appezzamento	Coltura	Data dell'osservazione	Superficie esplorata mq	Lunghezza media dei fusti cm	Peso complessivo delle piante raccolte kg	Numero delle piante per mq	Produzione rapportata ad ha ql.
1	Pantanelle .	Stoppia	10–VIII–39	208,9	70—90	60,400	4,78	28,90
2	Vitellara . .	»	12–VIII–37	390,7	70—90	33,000	1,55	8,40
3	Alingoli . .	»	13–VIII–37	37,2	15—70	3,720	16,28	10,00
4	Ontaneto . .	»	18–VIII–38	100,0	30—50	5,745	17,18	5,74
5	Alingoli . .	»	19–VIII–38	400,0	20—30	4,830	13,65	1,20
6	Ara *	Pascolo	13–VIII–37	42,9	—	—	55,94	—
7	Condotti * .	»	18–VIII–38	100,0	—	—	15,65	—
8	Alingoli . .	Medicaio	20–VIII–38	100,0	25—35	5,508	13,94	5,50

* Già pascolato dal bestiame.

a caso in zone omogenee per inerbimento e sviluppo erbaceo, allo scopo di saggiare, sia pure in via di larga approssimazione, la sua produttività in condizioni variate di convivenza con altre essenze della flora spontanea e cioè nelle stoppie in stadio iniziale d'inerbimento dove trova le condizioni migliori per lo sviluppo, e nei prati e pascoli.

I dati riportati nella tabella I rilevano forti differenze tra il materiale proveniente da terreni diversi per giacitura ed erbosità. Nelle stoppie di pianura (prove I e II) la densità generalmente è scarsa, ma per il maggior sviluppo raggiunto dalla essenza si verificano le più elevate produzioni per unità di superficie. In collina (prove III, IV e V) invece sembra avvenire l'opposto e cioè la densità risulta notevolmente superiore, mentre il peso unitario delle piante decresce. Nei medicai, (prova VII), nei primi anni dall'impianto, si verificano le medesime condizioni d'ambiente dei terreni coltivati e quindi valgono anche per essi le considerazioni sopra esposte.

Nei pascoli permanenti la distribuzione delle piante è meno regolare che nelle stoppie. L'essenza si addensa in alcune zone mentre difetta in altre di simili condizioni agrologiche. In ogni modo nelle formazioni pascolive l'alta densità dell'essenza è sempre in dipendenza dello isterilimento del terreno.

Tabella II

Rapporto ponderale foglie-fusti nel *P. romanum* Jacq.

	Peso foraggio fresco		Contenuto centesimale in sostanza secca		Sostanza secca totale		Rapporto ponderale			
							Foraggio fresco		Sostanza secca	
	Foglie kg	Fusto kg	Foglie %	Fusto %	Foglie kg	Fusto kg	Foglie %	Fusto %	Foglie %	Fusto %
10–12 agosto 1947	2,123	5,742	36,74	40,35	0,780	2,317	27,0	73,0	25,19	74,81

I dati riportati nella tabella II per il rapporto ponderale foglie-fusti, determinato su un grande numero di piante provenienti da località differenti denotano che la percentuale di materiale fornito dalle foglie è relativamente elevata se si tiene presente che trattasi di una specie botanica vegetante su terreno asciutto in pieno periodo estivo, quando le essenze proprie di questo periodo assumono abito xerofilo.

4. - Composizione chimica del *P. romanum* Jacq.

Non possedendosi alcun dato sulla composizione chimica del *P. romanum* Jacq. molta importanza fu data alle indagini intese ad accertarla nel periodo estivo allorchè la pianta in antesi fiorale raggiunge il maggiore sviluppo vegetativo ed è ricercata dal bestiame per la mancanza di altro foraggio fresco.

Le indagini sulla composizione chimica furono eseguite una prima volta sul campione medio proveniente da piante raccolte giornalmente nel periodo 17-27 agosto 1936, impiegate per il primo esperimento di digeribilità, e successivamente sul campione medio proveniente da piante raccolte nel periodo 2-12 agosto 1937 in coincidenza del secondo esperimento di digeribilità.

I dati riportati nelle tabelle III e IV mostrano che la composizione centesimale del *P. romanum* Jacq. si differenzia dagli altri foraggi freschi per il basso contenuto in umidità che si avvicina all'umidità normalmente posseduta dalle foglie di alcuni alberi, mentre riferita alla sostanza secca la composizione chimica si avvicina molto a quella di un buon prato naturale in fioritura. Il contenuto in fibra grezza non eccede i valori che normalmente si riscontrano per la fibra grezza nei trifogli in piena fioritura, mentre, giudicando a prima vista la pianta, sembra che sia più elevato di quanto si desume dai dati analitici.

Non si notano neanche differenze significative fra i due campioni analizzati in anni e periodi di tempo differenti. Il *Polygonum* raccolto nel periodo 2-12 agosto si presenta lievemente più ricco di protidi del *Polygonum* raccolto in periodo vegetativo più avanzato (17-27 agosto), ma per contro quest'ultimo mostra un contenuto in fibra grezza sensibilmente più basso probabilmente in relazione all'andamento stagionale differente del 1937 rispetto al 1936.

Il contenuto in pentosani risultò alquanto elevato ed i protidi grezzi risultarono costituiti per circa il 90 % da protidi puri.

Le sostanze inorganiche risultarono costituite (tabella V) per la massima parte di potassio, calcio, cloro, magnesio ed è apparso notevole il fatto che quest'ultimo elemento vi fosse contenuto, in rapporto al calcio, in una proporzione più elevata di quanto si osserva normalmente nei comuni foraggi nei quali l'Mg O rappresenta circa un terzo del contenuto in Ca O. Notevole è anche la ricchezza in cloro di questa pianta mentre il silicio è contenuto in quantità relativamente modesta.

TABELLA III

Composizione chimica media del *P. romanum* Jacq.

Epoca della raccolta	Umidità %	Sostanza organica %	Protidi grezzi (N × 6,25) %	Protidi puri %	Lipidi grezzi %	Fibra grezza %	Ceneri %	Estrattivi inazotati %	Pentosani %
1. – Inizio della fioritura (2–12 agosto)	67,86	29,57	3,80	3,48	1,00	10,70	2,57	14,07	—
2. – Fioritura (17–27 agosto) .	61,22	36,47	3,85	3,46	0,76	11,20	2,31	20,66	5,60

TABELLA IV

Composizione chimica media del *P. romanum* Jacq. riferita alla sostanza secca

Epoca della raccolta	Sostanza organica %	Protidi grezzi (N × 6,25) %	Protidi puri %	Lipidi grezzi %	Fibra grezza %	Ceneri %	Estrattivi inazotati %	Pentosani %
1. – Inizio della fioritura (2–12 agosto)	92,01	11,83	10,84	3,11	33,30	7,99	43,77	—
2. – Fioritura 17–27 agosto) . . .	94,05	9,92	8,93	1,96	28,88	5,95	63,29	15,44

Tabella V

Composizione minerale del *P. romanum* Jacq. per 100 di sostanza secca

Stadio vegetativo	Na	K	Ca	Mg	P	S	Cl	Fe	Si
Inizio fioritura (2–12 agosto)	0,12	2,18	0,98	0,41	0,25	0,25	0,78	0,06	0,20
Fioritura (17–27 agosto)	0,26	1,48	0,73	0,37	0,18	0,22	0,57	0,03	0,12

Tabella VI

Basi ed acidi fissi del *P. romanum* Jacq. in 1000 equivalenti per 100 di sostanza secca

Stadio vegetativo	Basi fisse					Acidi fissi				Rapporto
	Na_2O	K_2O	Ca O	Mg. O	Fe_2O_3	P_2O_5	So_3	Cl	Si O_2	Bassi fisse / Acidi fissi
Inizio fioritura (2–12 agosto) . . .	5	55	43	32	3	24	16	22	11	1,89
Fioritura (17–27 agosto)	11	37	36	30	2	18	14	16	8	2,07

I dati esposti nella tabella VI mostrano che le ceneri nel *Polygonum* oltre ad essere nettamente alcaline presentano un alcalescenza alcalino-terrosa fortemente positiva (in media 51 millequivalenti) per cui la potassa risulta interamente antagonizzata. Il rapporto $P_2O_5/CaO =$ $= 0{,}50$ è basso.

In considerazione dell'elevato contenuto in magnesio ed in cloro ritenemmo opportuno indagare il metabolismo minerale nei soggetti da esperimento che, per la durata del periodo preparatorio e del periodo sperimentale vero e proprio degli esperimenti di digeribilità, furono alimentati sia nel 1936 che nel 1937 per circa un mese soltanto con *Polygonum*.

TABELLA VII

Valori medi del metabolismo minerale nei tre soggetti alimentati con *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura

	Sostanze ingerite ed emesse	Ceneri	Na	K	Ca	Mg.	Cl	S	P	Fe	Si
P. romanum . gr.	964,14	75,38	1,15	21,11	8,44	3,95	7,52	2,41	2,41	0,57	1,93
Acqua . . . . . gr.	1286 —	0,63	0,05	0,01	0,15	0,02	0,06	0,01	—	—	0,01
Ingesta.	—	76,01	1,20	21,02	8,59	3,97	7,58	2,42	2,41	0,57	1,94
Feci. . . . . gr.	414	37,80	0,33	1,70	8,91	2,76	—	1,60	2,32	1,04	2,11
Assorbiti . . .	—	38,21	0,87	19,32	— 0,32	1,21	7,58	0,82	0,09	— 0,47	— 0,17
Urina. . . . . . gr.	1485	33,52	0,78	16,01	0,06	0,78	6,30	0,91	0,08	—	0,08
Bilancio . . .		+ 4,69	+ 0,09	+ 3,31	— 0,38	+ 0,43	— 1,28	— 0,09	+ 0,01	— 0,47	— 0,25

Esponiamo per brevità in forma del tutto riassuntiva nella tabella VII i valori medi ottenuti per i tre soggetti impiegati nelle esperienze sul *Polygonum* all'inizio della fioritura avvertendo che fra un soggetto e l'altro si constatarono differenze insignificanti nei riguardi del bilancio dei singoli elementi e che risultati presso a poco corrispondenti si ottennero nelle esperienze sul *Polygonum* in fioritura.

I dati riportati nella tabella VII mostrano che, ad eccezione del calcio il cui bilancio si chiude in lieve perdita, probabilmente per l'azione in certo senso opposta esercitata dall'eccesso di magnesio sul metabolismo del calcio, e del ferro, contenuto in quantità insufficiente nel *Polygonum*, non si hanno perdite degne di nota per gli altri elementi inorganici indagati.

5. - Digeribilità del *P. romanum* Jacq.

Come già accennato le esperienze di digeribilità furono eseguite nel periodo 17-27 agosto 1936 per il *Polygonum* in fioritura e nel periodo 2-12 agosto 1937 per il *Polygonum* in prefioritura. Entrambi i periodi sperimentali furono preceduti da periodi preparatori della durata di giorni 20 durante i quali i soggetti da esperimento usufruirono della medesima quantità giornaliera di *Polygonum* appena raccolto (kg 3 per capo) quantità che fu consumata anche nel periodo sperimentale vero e proprio.

Le indagini furono condotte su due montoni nel 1936 e su tre montoni nel 1937, muniti di apposita apparecchiatura per la raccolta separata delle feci e delle urine.

Per tutta la durata dei periodi preparatorio e di esperimento i montoni vennero alimentati due volte al giorno con quantità costanti di *Polygonum* fresco appena raccolto sufficienti a coprire all'incirca il fabbisogno energetico di mantenimento. Giorno per giorno durante il periodo sperimentale venne determinata la sostanza secca del *P. romanum* Jacq. somministrato, dei residui e delle feci.

a) Esperienze di digeribilità del 1936 sul *P. romanum.* — Nelle esperienze del 1936 sul *Polygonum* in fioritura i soggetti da esperimento non consumarono, nel periodo sperimentale vero e proprio, l'intera razione, ma lasciarono in media rispettivamente kg 0,757 e kg 0,336 di residui giornalieri.

I risultati ottenuti sono esposti nelle tabelle VIII, IX, X, XI e XII.

TABELLA VIII

Composizione chimica del *P. romanum* Jacq. in fioritura

Sostanze	Sostanza secca	Sostanza organica	Sostanza azotate totali (N × 6,25)	Protidi puri	Lipidi grezzi	Fibra grezza	Ceneri	Estrattivi inazotati	Pentosani	Lignina
	In 100 parti di sostanza fresca									
Polygonum	38,78	36,47	3,85	3,46	0,76	11,20	2,31	20,66	5,60	1,96
Residui di *Polygonum*	43,31	41,00	3,90	3,04	0,61	13,89	2,31	22,59	7,22	2,76
	In 100 parti di sostanza secca									
Polygonum	—	94,05	9,92	8,93	1,96	28,88	5,95	53,29	15,44	5,07
Residui di *Polygonum*	—	94,66	9,03	7,01	1,40	32,08	5,34	52,15	16,68	6,38

TABELLA IX

Composizione chimica delle feci

Montone	Sostanza secca	In 100 parti di sostanza secca								
		Sostanza organica	Sostanze azotate totali (N × 6,25)	Protidi puri	Lipidi grezzi	Fibra grezza	Ceneri	Estrattivi inazotati	Pentosani	Lignina
OP 2060 . .	52,10	91,65	15,91	15,15	2,28	34,66	8,35	38,80	13,33	9,51
BLP 3121 .	41,13	92,67	15,14	14,73	1,49	34,89	7,33	41,15	15,35	9,00

Tabella X

Digeribilità del *P. romanum* Jacq. in fioritura

	Quantità ingerite ed emesse gr	Sostanza secca gr	Sostanza organica gr	Sostanze azotate totali (N × 6,25) gr	Protidi puri gr	Lipidi grezzi gr	Fibra grezza gr	Ceneri gr	Estrattivi inazotati gr	Pentosani gr	Lignina gr
Montone OP 2060											
Polygonum	3000	1163,40	1094,18	115,41	103,89	22,80	335,99	69,22	619,98	179,63	58,98
Residui di *Polygonum*	757	327,86	310,35	29,60	22,98	4,59	105,18	17,51	170,98	54,69	20,91
Ingesta . . .	2243	835,54	783,83	85,81	80,91	18,21	230,81	51,71	449,00	124,94	38,07
Feci . . .	619	322,50	295,57	51,31	48,96	7,35	111,78	26,93	125,13	42,99	30,66
Assorbito		513,04	488,26	34,50	32,05	10,86	119,03	24,78	329,87	81,95	7,41
Digeribilità % . . .		**61,40**	**62,29**	**40,20**	**39,61**	**59,63**	**51,57**	**47,92**	**72,13**	**65,59**	**12,56**
Montone BLP 3121											
Polygonum	3000	1163,40	1094,18	115,41	103,89	22,80	335,99	69,22	619,98	179,63	58,98
Residui di *Polygonum*	336	145,52	137,75	13,14	10,20	2,04	46,68	7,77	75,89	24,27	21,43
Ingesta . . .	2664	1017,88	956,43	102,27	93,69	20,76	289,31	61,45	544,09	155,36	37,55
Feci . . .	1167	479,99	444,81	72,67	70,70	7,15	167,47	35,18	197,52	73,68	43,20
Assorbito		537,89	511,62	29,60	22,99	13,61	121,84	26,27	346,57	81,68	—
Digeribilità % . . .		**52,84**	**53,49**	**28,94**	**24,53**	**65,55**	**42,11**	**42,75**	**63,69**	**52,57**	—

Tabella XI

Digeribilità media del *P. romanum* Jacq. in fioritura

	Sostanza secca %	Sostanza organica %	Sostanze azotate totali (N × 6,25) %	Protidi puri %	Lipidi grezzi %	Fibra grezza %	Estrattivi inazotati %	Pentosani %	Lignina %
Montone OP 2060 .	61,40	62,29	40,20	39,61	59,63	51,57	72,13	65,59	12,56
Montone BLP 3121 .	52,84	53,49	28,94	24,53	65,55	42,11	63,69	52,57	—
Media . . .	**57,12**	**57,89**	**34,57**	**32,07**	**62,59**	**46,84**	**67,91**	**59,08**	**6,28**

Tabella XII

Contenuto medio in sostanze digeribili del *P. romanum* Jacq. in fioritura

	Sostanza secca %	Sostanza organica %	Sostanze azotate totali (N × 6,25) %	Protidi puri %	Lipidi grezzi %	Fibra grezza %	Estrattivi inazotati %	Pentosani %	Lignina %
				in sostanza fresca					
Montone OP 2060 .	23,81	22,72	1,55	1,37	0,45	5,78	14,90	3,67	0.24
Montone BLP 3121 .	20,49	19.51	1,11	0,85	0,50	4.72	13,16	2.94	—
Media . . .	*22,16*	*21,11*	*1,33*	*1,11*	*0,48*	*5,25*	*14,03*	*3,31*	*0,12*
				in sostanza secca					
Montone OP 2060 .	—	58,58	3,99	3,54	1,17	14,89	38,44	10,13	0,63
Montone BLP 3121 .	—	49,37	2,87	2,19	1,28	12,15	33.94	8.12	—
Media	—	**54,45**	**3,43**	**2,86**	**1,23**	**13,53**	**36,19**	**9,12**	**0,31**

b) Esperienze di digeribilità del 1937. — Le esperienze di digeribilità del 1937 sul *Polygonum* all'inizio della fioritura furono condotte come già accennato su tre montoni che consumarono ciascuno l'intero quantitativo di *Polygonum* assegnato senza lasciare residui.

I risultati ottenuti sono esposti nelle tabelle XIII, XIV, XV, XVI e XVII.

Tabella XIII

Composizione chimica del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura (2-12-8 1937)

	Sostanza secca	Sostanza organica	Sostanze azotate totali (N × 6,25)	Protidi puri	Lipidi grezzi	Fibra grezza	Ceneri	Estrattivi inazotati	Lignina
	In 100 parti di sostanza fresca								
P. romanum	32,14	29,57	3,80	3,48	1,00	10,70	2,57	14,07	1,54
	In 100 parti di sostanza secca								
»	—	92,01	11,83	10,84	3,11	33,30	7,99	43,77	4,82

Tabella XIV

Composizione chimica delle feci

	Sostanza secca	In 100 parti di sostanza secca							
		Sostanza organica	Sostanze azotate totali (N × 6,25)	Protidi puri	Lipidi grezzi	Fibra grezza	Ceneri	Estrattivi inazotati	Lignina
Montone P 4598 . . .	38,52	89,50	15,44	15,44	2,98	46,86	10,50	24,22	10,06
Montone OP 2060 . .	51,91	90,46	15,98	15,62	2,96	45,84	9,54	25,68	10,19
Montone BLP 3121	51,89	89,15	15,78	15,19	3,25	29,05	10,85	41,07	9,61

Tabella XV

Digeribilità del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura (2-12 agosto 1947)

	Sostanze ingerite ed emesse giornalmente gr	Sostanza secca gr	Sostanza organica gr	Sostanze azotate totali (N × 6,25) gr	Protidi puri gr	Lipidi grezzi gr	Fibra grezza gr	Ceneri gr	Estrattivi inazotati gr	Lignina gr
Montone P 4598										
P. romanum	3000	964,20	887,16	114,06	104,52	29,99	321,08	77,04	422,03	54,17
Feci	1124,5	433,16	387,68	66,88	66,88	12,91	202,98	45,48	104,91	43,57
Assorbito	—	351,04	499,48	47,18	37,64	17,08	118,10	31,56	317,12	10,60
Digeribilità %	—	**55,07**	**56,30**	**41,36**	**36,01**	**56,95**	**36,78**	**40,96**	**75,14**	**19,56**
Montone OP 2060										
P. romanum	3000	964,20	887,16	114,06	104,52	29,99	321,08	77,04	422,03	54,17
Feci	785,5	407,75	368,85	65,16	63,69	12,07	186,91	38,90	104,71	41,55
Assorbito		556,45	518,31	48,90	40,83	17,92	134,17	38,14	317,32	12,62
Digeribilità %		**57,71**	**58,42**	**42,87**	**39,06**	**59,75**	**41,78**	**49,50**	**75,18**	**23,29**
Montono BLP 3121										
P. romanum	3000	964,20	887,16	114,06	104,52	29,99	321,08	77,04	422,03	54,17
Feci	773	401,11	357,58	63,29	60,93	13,04	116,52	43,53	164,73	38,54
Assorbito		563,09	529,50	50,77	43,59	16,95	204,56	33,51	257,30	15,63
Digeribilità %		**58,39**	**59,69**	**44,51**	**41,70**	**56,51**	**63,70**	**43,49**	**60,96**	**28,85**

TABELLA XVI

Digeribilità media del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura

	Sostanza secca %	Sostanza organica %	Sostanze azotate totali (N × 6,25) %	Protidi puri %	Lipidi grezzi %	Fibra grezza %	Estrattivi inazotati %	Lignina %
Montone P 4598 . . .	55,07	56,30	41,36	36,01	56,95	36,78	75,14	19,56
» OP 2060 . .	57,71	58,42	42,87	39,06	59,75	41,78	75,18	23,29
» BLP 3121 . . .	58,39	59,69	44,51	41,70	56,51	63,70	60,96	28,85
Media . . .	**57,06**	**58,14**	**42,91**	**38,92**	**57,74**	**47,42**	**70,43**	**23,90**

TABELLA XVII

Contenuto medio in sostanze digeribili del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura

	Sostanza secca	Sostanza organica	Sostanze azotate totali (N × 6,25)	Protidi puri	Lipidi grezzi	Fibra grezza	Estrattivi inazotati	Lignina
				in 100 di sostanza fresca				
Montone P 4598 . . .	17,70	16,65	1,57	1,25	0,57	3,94	10,57	0,30
» OP 2060 . . .	18,55	17,27	1,63	1,36	0,60	4,47	10,58	0,35
» BLP 3121 . . .	18,77	17,65	1,69	1,45	0,57	6,82	9,58	0,44
Media . . .	**18,34**	**17,19**	**1,63**	**1,35**	**0,58**	**5,07**	**9,91**	**0,36**
				in 100 di sostanza secca				
» P 4598 . . .	—	51,80	4,89	3,90	1,77	12,25	32,89	0,94
» OP 2060 . . .	—	53,75	5,07	4,23	1,86	13,91	32,91	1,12
» BLP 3121 . . .	—	54,92	5,27	4,52	1,76	21,21	26,68	1,36
Media . . .	—	**53,49**	**5,08**	**4,22**	**1,80**	**15,79**	**30,83**	**1,14**

La digeribilità del *P. romanum* Jacq., come appare dai valori riportati nelle tabelle XI e XVI, non è elevata. Soprattutto la digeribilità dei protidi resta sensibilmente inferiore alla digeribilità dei protidi contenuti nella maggior parte dei foraggi verdi di uso comune, mentre per i lipidi, per la fibra grezza e per gli estrattivi inazotati i valori trovati per il *Polygonum*, a parità di contenuto percentuale di sostanza secca, si avvicinano molto ai valori assegnati alla digeribilità del *Phleum pratense* L.

6. - Metabolismo dell'azoto

Il metabolismo dell'N è stato indagato contemporaneamente alle esperienze di digeribilità eseguite nel 1936 sul *Polygonum* in fioritura. Le indagini si riferiscono pertanto ad un periodo di dieci giorni preceduto da altro periodo della durata di giorni 20 nel quale l'alimentazione è rimasta costante come nel periodo sperimentale vero e proprio.

Le determinazioni dell'N vennero eseguite giornalmente sul mangime somministrato, sulle feci e sulle urine emesse (tabelle XVIII, XIX, XX e XXI) ponendo la massima cura nel prelievo dei campioni.

L'N fissato nelle produzioni epidermiche è stato calcolato indirettamente secondo le norme indicate da W. Völtz per gli ovini.

Tabella XVIII

N ingerito ed emesso con le feci e con le urine dal montone OP 2060 alimentato con *P. romanum* Jacq. in fioritura

Data	*Polygonum* (sostanza secca)			Residui di *Polygonum* (sostanza secca)			Feci (sostanza secca)			Urine gr		
	Quantità somministrata gr	N % gr	N totale gr	Residui gr	N % gr	N totale gr	Quantità emessa gr	N % gr	N totale gr	Quantità emessa gr	N % gr	N totale gr
17-18-VIII-1936	1213	1,66	20,21	489	1,39	6,95	307	2,46	7,55	931	0,47	4,37
19 » »	1102	1,90	20,95	400	1,41	5,65	305	2,50	7,62	986	0,47	4,70
20 » »	1132	1,73	19,59	297	1,31	3,90	391	2,57	10,04	1140	0,47	5,44
21 » »	1144	1,52	17,44	405	1,18	4,78	316	2,39	7,56	1275	0,36	4,63
22 » »	1118	1,48	16,55	257	1,34	3,49	327	2,69	8,81	1395	0,34	4,73
23 » »	1277	1,36	17,42	323	1,33	4,31	259	2,64	6,85	1110	0,35	3,92
24 » »	1006	1,60	16,15	156	1,70	2,66	307	2,46	7,56	1215	0,27	3,27
25 » »	1128	1,23	13,89	360	1,13	4,09	336	2,49	8,37	1391	0,33	4,58
26 » »	1243	1,63	20,34	195	1,24	2,41	401	2,46	9,86	1165	0,37	4,35
27 » »	1271	1,72	21,95	368	1,44	5,31	276	2,51	6,94	1461	0,31	4,62
Media . . .	1163	1,58	18,44	325	1,34	4,35	322	2,51	8,11	1207	0,37	4,46

Tabella XIX

N ingerito ed emesso con le feci e con le urine del montone BLP 3121 alimentato con *P. romanum* Jacq. in fioritura

Data	*Polygonum* (sostanza secca) gr			Residui di *Polygonum* sostanza (secca) gr			Feci (sostanza secca) gr			Urine gr		
	Quantità somministrata gr	N % gr	N totale gr	Residui gr	N % gr	N totale gr	Quantità emessa gr	N % gr	N totale gr	Quantità emessa gr	N % gr	N totale gr
17-18-VIII-1936	1213	1,66	20,21	225	1,39	3,14	446	2,16	9,65	660	0,47	3,10
19 » »	1102	1,90	20,95	161	1,41	2,27	494	2,50	12,33	485	0,70	3,40
20 » »	1132	1,73	19,59	185	1,31	2,43	489	2,39	11,68	835	0,45	3,76
21 » »	1144	1,52	17,44	172	1,18	2,03	443	2,57	11,41	1020	0,36	3,67
22 » »	1118	1,48	16,55	157	1,36	2,13	475	2,56	12,16	865	0,26	2,24
23 » »	1277	1,36	17,42	160	1,33	1,13	473	2,57	12,18	1045	0,32	3,42
24 » »	1006	1,60	16,15	114	1,70	1,94	488	2,33	11,36	905	0,33	3,06
25 » »	1128	1,23	13,90	90	1,13	1,02	511	2,42	12,40	815	0,40	3,32
26 » »	1243	1,63	20,34	109	1,23	1,35	476	2,26	10,75	775	0,43	3,25
27 » »	1271	1,72	21,95	54	1,44	0,78	500	2,37	11,99	1095	0,44	4,88
Medie . . .	1163	1,57	18,45	143	1,34	1,92	480	2,41	11,59	850	0,41	3,41

Tabella XX

Bilancio medio giornaliero dell'N nel montone OP 2060 alimentato con *P. romanum* Jacq. in fioritura

	N	
	Entrata gr	Uscita gr
P. romanum ingerito	14,09	
Feci		8,12
Urine		4,46
Produzioni epidermiche		1,20
N. ritenuto . . .	—	0,31
Totali . . .	14,09	14,09

Tabella XXI

Bilancio medio giornaliero dell'N nel montone BLP 3121 alimentato con *P. romanum* Jacq. in fioritura

	N	
	Entrata gr	Uscita gr
P. romanum ingerito	16,53	
Feci		11,59
Urine		3,42
Produzioni epidermiche		1,05
N. ritenuto . . .	—	0,47
Totali . . .	16,53	16,53

I dati riportati nelle tabelle XX e XXI mostrano che nei due soggetti da esperimento, alimentati a livello del fabbisogno energetico di mantenimento, si ebbero sensibili ritenute di N malgrado la digeribilità relativamente bassa riscontrata nell'esperimento di digeribilità. Ciò dimostra che almeno per gli ovini adulti alimentati esclusivamente col *P. romanum* Jacq. i protidi di questa essenza botanica si dimostrarono atti a coprire il fabbisogno protidico di mantenimento consentendo anche ritenute di N.

7. - Energia metabolizzabile del *P. romanum* Jacq.

Le ricerche sulla digeribilità del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura ed in fioritura sono state completate con le determinazioni calorimetriche del *Polygonum* ingerito e delle corrispondenti feci ed urine per giungere alla valutazione diretta dell'energia metabolizzabile.

Tabella XXII

Energia metabolizzabile del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura riscontrata con il montone P 4598

	Sostanza umida g.	Sostanza secca g.	Per ogni g. di sostanza secca Cal.	Energia lorda del mangime Cal.	Energia nelle escrezioni Cal.
1. – Entrata					
P. romanum	3000.0	964.20	4.310	4155.7	
2. – Uscita					
Feci	1124.5	433.16	4.467	—	1934.9
Urina	850.0	—	0.202	—	171.7
Gas digestivi	—	—	—	—	249.4
3. – Energia metabolizzabile	—	—	—	—	**1799.7**
				4155.7	4155.7

Le determinazioni calorimetriche sono state eseguite costantemente in doppio nel calorimetro di Berthelot Mahler con la consueta tecnica. Le perdite dovute alla emissione di gas intestinali ricchi di energia libera durante il processo digestivo sono state determinate indirettamente applicando al contenuto in glucidi digeribili il coefficiente proposto dal Kellner per i ruminanti.

Tabella XXIII

Energia metabolizzabile del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura riscontrata con il montone OP 2060

	Sostanza umida g.	Sostanza secca g.	Per g. di sostanza secca Cal.	Energia lorda del mangime Cal.	Energia nelle escrezioni Cal.
1. – Entrata					
P. romanum	3000	964,20	4,310	4155,7	
2. – Uscita					
Feci	785,5	407,75	4,371	—	1782,3
Urina	2345,0	—	0,089	—	208,7
Gas intestinali	—	—	—	—	258,7
3. – Energia metabolizzabile.	—	—	—	—	**1906,0**
				4155,7	4155,7

I dati ottenuti sono riassunti nelle tabelle XXII, XXIII e XXIV per il *Polygonum* all'inizio della fioritura e nelle tabelle XXV e XXVI per il *Polygonum* in fioritura.

TABELLA *XXIV*

Energia metabolizzabile del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura riscontrata con il montone PLP 3121

	Sostanza umida g.	Sostanza secca g.	Per g. di sostanza secca Cal.	Energia lorda del mangime Cal.	Energia nelle escrezioni Cal.
1. - Entrata					
Polygonum	3000,0	964,20	4,310	4155,7	
2. - Uscita					
Feci	703,0	471,11	4,587	—	1839,9
Urina	1360,0	—	0,155	—	210,8
Gas digestivi	—	—	—	—	264,6
3. - Energia metabolizzabile	—	—	—	—	**1840,4**
				4155,7	4155,7

TABELLA *XXV*

Energia metabolizzabile del *P. romanum* Jacq. in fioritura riscontrata con il montone OP 2060

	Sostanza umida g.	Sostanza secca g.	Per g. di sostanzza secca Cal.	Energia lorda del mangime Cal.	Energia nelle escrezioni Cal.
1. - Entrata					
P. romanum	3000,0	1163,40	4,315	5020,0	
Residui *P. romanum*	757,0	327,86	4,295	1408,1	
				3611,9	
2. - Uscita					
Feci	619,0	322,50	4,520	—	1457,7
Urine	1207,0	—	0,148	—	178,6
Gas digestivi	—	—	—	—	253,8
3. - Energia metabolizzabile	—	—	—	—	**1721,8**
				3611,9	3611,9

Tabella XXVI

Energia metabolizzabile del *P. romanum* Jacq.
in fioritura riscontrata con il montone BLP 3121

	Sostanza umita g.	Sostanza secca g.	Per g. sostanza secca Cal.	Energia lorda del mangime Cal.	Energia nelle escrezioni Cal.
1. – Entrata					
P. romanum	3000,0	1163,40	4,315	5020,70	
Residui *P. romanum*	336,0	–145,52	4,295	–625,00	
2. – Uscita				4395.70	
Feci	1167,8	479,99	4,520		2169,5
Urina	848,00	—	0,156		132,3
Gas digestivi	—	—	—		131,5
3. – Energia metabolizzabile	—	—	—	—	**1961,7**
				4395,0	4395,0

I dati medi riportati nelle tabelle XXVII e XXVIII non accusano differenze marcate fra il contenuto in energia metabolizzabile del *Polygonum* all'inizio della fioritura ed il *Polygonum* in piena fioritura raccolto in stagione estiva più avanzata, probabilmente per il fatto che quest'ultimo, come appare dai valori riportati nella tabella IV, presentò un contenuto in fibra grezza sensibilmente inferiore in relazione alla differente località nella quale venne raccolto ed al differente andamento climatico stagionale.

Tabella XXVII

Perdite percentuali dell'energia bruta del *P. romanum* Jacq.
all'inizio della fioritura ed energia metabolizzabile

	Perdite percentuali dell'energia bruta			Energia metabolizzabile	Energia metabolizzabile in un g. sostanza secca Cal.	Energia metabolizzabile in un g. sostanza organica digeribile Cal.
	Feci %	Urina %	Gas digestivi %	%		
Montone P. 4598 . . .	45,56	4,13	6,00	43,31	1,87	3,60
Montone OP 2060 . . .	42,89	5,02	6,22	45,87	1,98	3,68
Montone BLP 3121 . . .	44,27	5,07	6,37	44,29	1,91	3,47
Media . . .	44,57	4,74	6,19	44,49	1,92	3,58

Tabella XXVIII

Perdite percentuali della energia bruta del *P. romanum* Jacq. in piena fioritura ed energia metabolizzabile

	Perdite percentuali dell'energia bruta			Energia metabolizzabile %	Energia metabolizzabile in 1 g. di sostanza secca Cal.	Energia metabolizzabile in 1 g. di sostanza digeribile Cal.
	Feci %	Urina %	Gas digestivi %			
Montone OP 2060	40,36	4,94	7,02	47,68	2,06	3,52
» BPL 3121 . . .	49,36	3,01	2,99	44,64	1,93	3,83
Media . . .	44,88	3,98	5,00	46,14	1,99	3,67

In valore assoluto il contenuto percentuale in energia metabolizzabile del *Polygonum* (44,49 % e 46,16 % della energia lorda rispettivamente all'inizio della fioritura ed in piena fioritura) non risulta elevato, ma non si scosta molto dall'analogo valore (47,78 %) riscontrato per la sulla in piena ed avanzata fioritura *. Il contenuto in energia metabolizzabile per grammo di sostanza organica digeribile (Cal. 3,58-3,67) per contro risulta elevato.

8. - Valore nutritivo

L'energia netta del *P. romanum* Jacq., calcolata in base ai valori ottenuti sperimentalmente per la composizione chimica e per la digeribilità con il procedimento indicato dal Kellner per i foraggi verdi diede i seguenti valori espressi in unità amido per l'ingrassamento dei bovini adulti (Cal. 2360):

1. — Energia netta del *P. romanum* Jacq. all'inizio della fioritura.

In 100 kg di prodotto fresco (umidità 67,8 %), unità amido 12,70 pari ad unità nutritive scandinave 18,15.

2. — Energia netta del *P. romanum* Jacq. in piena fioritura.

---

* Maymone, B., Petrucci, E., e Ceci-Ginestrelli, D. Composizione chimica, digeribilità, metabolismo dell'azoto ed energia metabolizzabile della sulla (*Hedysarum coronarium* L.). *Annali dell'Istituto Sperimentale Zootecnico di Roma*, 1945, vol. III, pp. 257-296.

In 100 kg di prodotto fresco (umidità 61,2 %), unità amido 16,19 pari ad unità nutritive scandinave 23,15.

Rapportata a 100 kg di sostanza secca l'energia netta del *Polygonum* risulta pari ad unità amido 60,5 all'inizio della fioritura ed unità amido 58,2 in piena fioritura.

Espresso in sostanze digeribili totali (T.D.N.) anzichè in energia netta il valore nutritivo del *P. romanum* Jacq. risulta il seguente:

Tabella XXIX

Sostanze digeribili totali del *P. romanum* Jacq. in 100 di sostanza secca

Stadio vegetativo	Protidi grezzi digeribili %	Sostanze digeribili totali (T. D. N.) %
1. – *P. romanum* all'inizio della fioritura	5,08	55,75
2. – *P. romanum* in piena fioritura	3,43	55,92

In base ai dati esposti il contenuto in energia netta del *P. romanum* Jacq. si avvicina molto, a parità di contenuto in sostanza secca, al valore nutritivo assegnato al *Phleum pratense* L. restando più ricco di quest'ultimo in protidi digeribili. Data la sua elevata resistenza alla siccità è da prendere in considerazione il miglioramento di questa essenza foraggera spontanea per accrescerne la fogliosità e la sua diffusione fra le essenze prative dei terreni aridi.

RIASSUNTO

1. — Il *Polygonum romanum* Jacq. diffuso nelle formazioni botaniche dei prati e pascoli della campagna romana e delle altre regioni è pianta dotata di elevata resistenza alla siccità iniziando la fioritura verso la metà di agosto e protraendola sino a novembre.

2. — Giudicata a prima vista la pianta appare fibrosa per il portamento prostrato e per il basso contenuto in umidità che si avvicina all'umidità normalmente posseduta dalle foglie di alcuni alberi, mentre la composizione chimica riferita alla sostanza secca si presenta per molti aspetti analoga a quella di altre foraggere.

Le sostanze inorganiche risultano costituite per la massima parte di K, Ca, Cl, Mg. Quest'ultimo elemento è contenuto in rapporto al

Ca in proporzione più elevata che nella generalità delle altre foraggere, ma il metabolismo minerale dei soggetti da esperimento non risultò turbato dall'eccesso di Mg.

3. — La digeribilità apparente del *Polygonum* all'inizio della fioritura (sostanza organica 58,1 %, protidi grezzi 42,9 %, lipidi 57,7 %, fibra grezza 47,4 %, estrattivi inazotati 70,4 %) è risultata soddisfacente e non molto dissimile dalla digeribilità presentata dal *Polygonum* in piena fioritura. A parità di contenuto percentuale di sostanza secca i valori trovati si avvicinano ai valori assegnati alla digeribilità del *Phleum pratense* L.

4. — Il bilancio dell'N ha segnato nei soggetti adulti, sui quali si è sperimentato a livello del fabbisogno di mantenimento una buona ritenzione.

5. — L'energia metabolizzabile direttamente determinata è risultata pari al 44,5 % dell'energia lorda totale nel *Polygonum* all'inizio della fioritura ed al 46,1 % nel *Polygonum* in piena fioritura. Per ogni grammo di sostanza organica digeribile l'energia metabolizzabile è risultata pari, rispettivamente, a Cal. 3,58 e Cal. 3,67.

6. — L'energia netta calcolata in base ai valori trovati sperimentalmente per la composizione chimica e per la digeribilità con il procedimento indicato dal Kellner per i foraggi verdi risultò pari ad unità amido per l'ingrassamento dei bovini adulti (Cal. 2360) 12,70 per 100 kg di prodotto fresco (umidità 67,8 %) nel caso del *Polygonum* all'inizio della fioritura, ed unità amido 16,19 nel caso del *Polygonum* in piena fioritura (umidità 61,2 %). Il contenuto in protidi grezzi digeribili risultò pari rispettivamente al 5,08 % ed al 3,4 %.

SUMMARY

RESEARCHES ON THE PRODUCTIVITY AND NUTRITIVE VALUE OF A SPONTANEOUS PLANT RESISTANT TO DROUGHT, *POLYGONUM ROMANUM* JACQ.

by B. Maymone, E. Petrucci and M. Tiberio

(1) *Polygonum romanum* Jacq. common in the botanical formations of the meadows and pastures of the Roman Campagna and of other regions is a plant dowered with high resistence to drought, beginning its flowering toward the middle of August and protracting it until November.

(2) Judged at first sight, the plant appears fibrous because of its prostrate appearance and its low humidity content which approaches closely to the humidity normally possessed by the leaves of certain trees, while the chemical composition related to the dried substance is analogous in many aspects to that of other fodders.

The inorganic substances prove to consist for the major part of K, Ca, Cl, Mg. The last element is contained in relation with Ca in proportions higher than in the generality of other fodders but the mineral metabolism of the subjects of experimentation did not prove disturbed by the excess of Mg.

(3) The apparent digestibility of *Polygonum* at the beginning of the flowering (organic substance 58.1 %, crude proteins 42.9 %, fats 57.7 %, crude fiber 47.4 %, N-free extracts 70.4 %) gave results satisfactory and not very different from the digestibility presented by *Polygonum* in full flower. On a parity with the percentage content of dried substance, the values found approach the values assigned to the digestibility of *Phleum pratense* L.

(4) The balance of N has marked a good retention in the adult subjects on which experiment was made in regard to the level of need for maintenance.

(5) The metabolizable energy directly determined gave results equal to 44.5 % of the total gross energy of *Polygonum* at the beginning of flowering and 46.1 % in *Polygonum* in full flower. For every gram of organic digestible substance, the metabolizable energy gave results equal respectively to 3.58 cal. and 3.67 cal.

(6) The net energy calculated on the basis of the values found experimentally for the chemical composition and for the digestibility with the procedure indicated by Kellner for the green forages gave results equal to 12.70 (2360 cal.) starch units for the fattening of adult oxen per 100 kg of fresh product (humidity 67.8 %) in the case of *Polygonum* at the beginning of flowering, and 16.19 starch units in the case of *Polygonum* in full flower (humidity 61.2 %). The content in crude digestible proteins gives results equal respectively to 5.08 % and 3.4 %.

Ricevuto il 15 luglio 1952.

ISTITUTO DI COLTIVAZIONI ARBOREE DELL'UNIVERSITÀ
(Direttore: Alessandro Morettini)
FIRENZE

Enrico Baldini

RICERCHE SULLA DIFFERENZIAZIONE DELLE GEMME DEL KAKI *

Il diospiro o kaki (*Diospyros kaki* L.), un tempo limitato in Italia a sporadici esemplari coltivati negli orti e nei giardini spesso a scopo prevalentemente ornamentale, in meno di un trentennio si è rapidamente diffuso ed ha acquistato una importanza considerevole nella nostra frutticoltura.

Vari problemi di carattere tecnico e biologico si sono presentati nel corso della rapida evoluzione di questa coltura: alcuni di essi sono già stati affrontati e risolti da quest'Istituto che ha pubblicato in merito delle note sperimentali sulla biologia della fecondazione (Morettini, 1947; 1948) e sulla istologia degli innesti (Scaramuzzi F., 1952).

Le suddette ricerche di biologia fiorale, unitamente a quelle condotte in altri Paesi (Yasui, 1915; Condit, 1919; Trabut, 1924; Namikawa, 1932; Naguchi, 1934), hanno permesso di stabilire la varia ripartizione dei sessi nell'ambito delle numerose specie e razze coltivate di diospiro, la cui biologia di fruttificazione è stata inoltre ampiamente illustrata negli aspetti più significativi della fase compresa tra l'antesi e la raccolta del prodotto. Dai suddetti studi, però, e dalle ricerche bibliografiche condotte, non risulta che per il diospiro sia stata finora determinata l'epoca di differenziazione delle gemme, che pure rappresenta uno dei più importanti stadi dell'attività biologica annuale di ogni albero da frutto. La differenziazione delle gemme, infatti, segna il punto di partenza del complesso ciclo di fruttificazione e la conoscenza del periodo in cui ha inizio, messa in relazione con i numerosi fattori capaci di influire sull'indirizzo evolutivo delle gemme, rappresenta indubbiamente un utile riferimento per la razionale applicazione di tutte quelle pratiche colturali

* Ricerche eseguite con un contributo del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste.

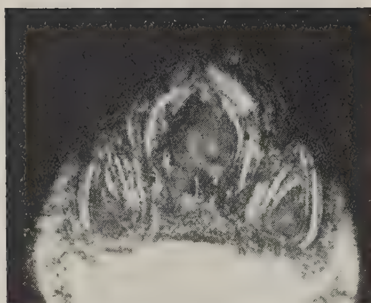



FIG. 1. – Gemma di kaki sezionata longitudinalmente (a sinistra) e gemma privata delle perule (a destra); notare la posizione delle sottogemme rispetto all'asse principale (× 10).

che regolano l'entità della fioritura e quindi anche quella della successiva fruttificazione.

Per i motivi suesposti, allo scopo di apportare un ulteriore contributo allo studio della biologia fiorale del diospiro, ho condotto a partire dal 1951, presso l'azienda sperimentale ed il laboratorio di questo Istituto, le ricerche che illustro nella presente nota.

Morfologia delle gemme del diospiro durante il riposo invernale

Nel kaki si riscontrano due tipi di gemme: *a*) gemme a legno; *b*) gemme miste. Le prime prevalgono sui rami vigorosi, mentre le seconde si riscontrano, generalmente, sui rami più deboli, nel tratto centro-terminale.

Non è agevole distinguere, come in altre specie, durante il periodo di riposo invernale, le gemme miste da quelle a legno in base alla loro esterna conformazione, per quanto le prime siano in generale più globose e meno appuntite delle seconde.

Ogni gemma è esteriormente protetta da due robuste perule a superficie liscia e coriacea, al disotto delle quali si susseguono, con disposizione valvare, numerose altre perule più sottili e ricoperte di un abbondante tomento sulla faccia esterna, mentre internamente sono glabre.

Tanto le gemme a legno quanto quelle miste constano di un asse principale, localizzato al centro della gemma, e, generalmente, da altri due assi secondari meno sviluppati e situati in posizione opposta sotto le due perule più esterne della gemma (fig. 1). Questi assi secondari sono costituiti ciascuno da un apice vegetativo circondato da embriofilli e, più superficialmente, da perule tomentose; essi costituiscono le sottogemme,



Fig. 2. – A sinistra: rametti originati dalle sottogemme che si sono sviluppate in sostituzione dell'asse principale della gemma. A destra: un eccesso di vigoria può causare, oltre allo sviluppo dell'asse principale, anche quello delle sottogemme.

analoghe a quelle presenti, spesso con diversa disposizione, in molte altre specie arboree da frutto (es. gemme di sostituzione dell'olivo (Agati, 1951); gemme di controcchio della vite (Manaresi, 1947); gemme stipulari del pesco; sottogemme del pero). Lo sviluppo di queste sottogemme è condizionato dalla mancata evoluzione dell'asse principale, oppure da una notevole vigoria del ramo che porta la gemma. In generale infatti, se l'asse principale non si sviluppa, come avviene, ad esempio, quando esso è danneggiato da repentini abbassamenti di temperatura (Baldini, 1949), oppure se si verifica un notevole afflusso di linfa alla gemma, uno od entrambi gli assi secondari entrano in attività e danno origine ad un germoglio che, nel kaki, è sempre infruttifero (fig. 2). Ordinariamente, però, le sottogemme restano in stato di

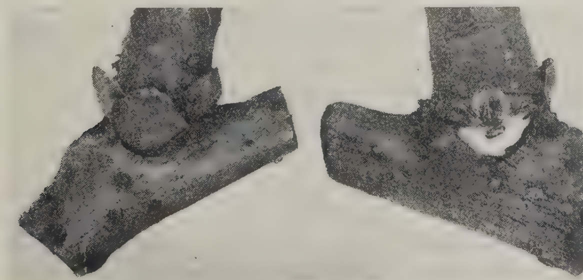


Fig. 3. – Sottogemma rimasta quiescente alla base del ramo originato dall'asse principale della gemma.

quiescenza ed in tale condizione rimangono durante le successive riprese vegetative, sotto le due perule più superficiali che persistono a lungo in corrispondenza della base del ramo originato dalla gemma stessa (fig. 3).



Fig. 4. – Tipi di ramo nel kaki. a: ramo infruttifero; b: ramo fruttifero sul quale persistono i peduncoli dopo la raccolta dei frutti.

Nelle gemme a legno anche l'asse principale è privo degli abbozzi fiorali, per cui, evolvendosi, esso dà origine ad un ramo infruttifero (fig. 4 *a*). Questo ramo all'ascella delle foglie porta le gemme che possono essere tutte a legno oppure anche di tipo misto; nel primo caso il ramo infruttifero si definisce a legno, nel secondo caso si definisce misto.

L'asse principale delle gemme miste, invece, è provvisto di primordi fiorali; evolvendosi esso dà dunque origine ad un ramo fruttifero (fig. 4 *b*), che generalmente porta gemme a legno nel tratto basale, fiori nel tratto mediano e quindi gemme miste nella porzione terminale.

Differenziazione ed evoluzione delle gemme miste

Materiale e metodo

Le gemme occorrenti per lo studio morfo-anatomico della differenziazione dei primordi fiorali, sono state prelevate da una pianta adulta di una delle principali razze coltivate (kaki tipo), allevata nell'azienda sperimentale di quest'Istituto. L'albero è in piena produzione ed in normali condizioni di sanità e di vigoria.

La schiusura delle gemme del kaki, nelle condizioni climatiche della provincia di Firenze, si verifica, in generale, nella seconda-terza decade di marzo. La successiva fase fenologica, ossia la fioritura, cade intorno alla metà di maggio, con fluttuazioni annuali spesso notevoli, in relazione al diverso andamento dei fattori climatici. Nell'anno 1951 le gemme della pianta oggetto di studio hanno cominciato a schiudersi il 23 marzo. La raccolta dei campioni è stata iniziata a partire dal 25 marzo, prelevando le gemme di recente formazione, situate nel tratto terminale dei piccoli germogli emessi dalle gemme appena dischiuse. Il campionamento è stato quindi proseguito, con identico criterio, ad intervalli di dieci giorni, fino alla completa caduta delle foglie (novembre 1951); quindi è stato effettuato saltuariamente, durante i mesi invernali ed è stato ripreso poi, con la medesima periodicità decadica, a partire dal febbraio 1952, fino all'epoca della fioritura (maggio 1952). In questa seconda fase del lavoro anche i fiori sono stati oggetto di campionamento.

Il materiale così raccolto è stato fissato in una soluzione di formalina al 10 %, quindi incluso in paraffina e sezionato in serie, colorato con ematossilina Delafield e safranina ed infine montato in balsamo del Canadà.

All'atto di ogni campionamento, un elevato numero di gemme è stato altresì sottoposto ad esame diretto con mezzi ottici adeguati, mediante dissezione « a fresco ». Tali osservazioni preliminari sono molto utili per stabilire — attraverso la visione stereoscopica della gemma — la reciproca posizione dei vari organi che la costituiscono; in tal modo viene facilitata la esatta interpretazione dei preparati microscopici.

Differenziazione delle gemme

25 marzo (tav. I a): le gemme prelevate dai piccoli getti emessi all'atto della schiusura delle gemme presentano una organizzazione ancora molto semplice dal punto di vista morfologico. Due catafilli, la cui superficie esterna comincia appena a ispessirsi, proteggono l'apice vegeta-

tivo che appare ravvolto da abbozzi fogliari che hanno ancora aspetto tendenzialmente mammellonare.

5 aprile-15 aprile (tav. I b) — 25 aprile-5 maggio (tav. I c): le gemme prelevate in questo periodo non presentano modificazioni degne di rilievo. Si assiste infatti, solamente, ad una progressiva formazione di abbozzi fogliari che gradatamente si convertono in più serie di brattee tomentose. Le brattee più superficiali, nel frattempo, hanno assunto la definitiva struttura di organi protettori e coibenti, per la presenza di uno strato esterno coriaceo e compatto, sotto il quale il tessuto diviene spugnoso e provvisto di numerose lacune.

15 maggio (tav. I d): all'ascella di ciascuna delle due brattee più esterne si differenzia un abbozzo mammellonare di tipo meristematico. Da questo rapidamente si evolve un sottogemma il cui apice appare presto ravvolto da una serie di embriofilli distinti da quelli che proteggono ed avviluppano l'intera gemma (25 maggio).

5 giugno-30 giugno (tav. I e, f, g): mentre si perfeziona l'evoluzione delle sottogemme, all'ascella degli embriofilli più interni progressivamente compaiono altri abbozzi meristematici che tendono a perdere la forma mammellonare e si allungano a guisa di piccoli coni.

10 luglio (tav. I h): gli abbozzi meristematici più evoluti, ossia quelli più periferici si appiattiscono all'apice e quindi si introflettono lievemente. Appare così la caratteristica conformazione ad «orciòlo» che corrisponde alla fase iniziale della differenziazione dei primordi fiorali*.

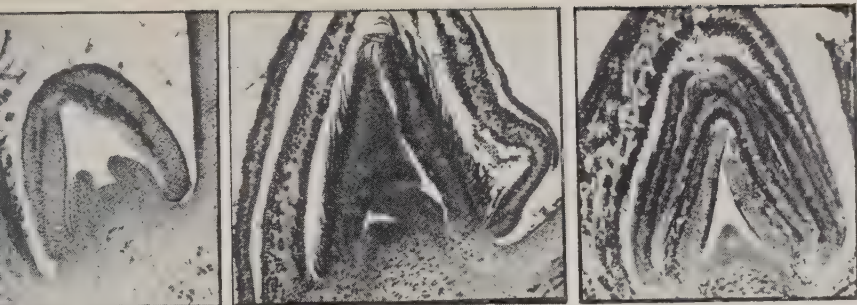
20 luglio (tav. I i): la concavità formatasi alla sommità dei singoli coni meristematici si delinea sempre più chiaramente, poichè i lembi dell'orciòlo si accrescono e vengono così a costituire le iniziali del primo verticillo fiorale (calice). Alla base degli abbozzi così formati sono generalmente inserite, fino da tale epoca, due brattee.

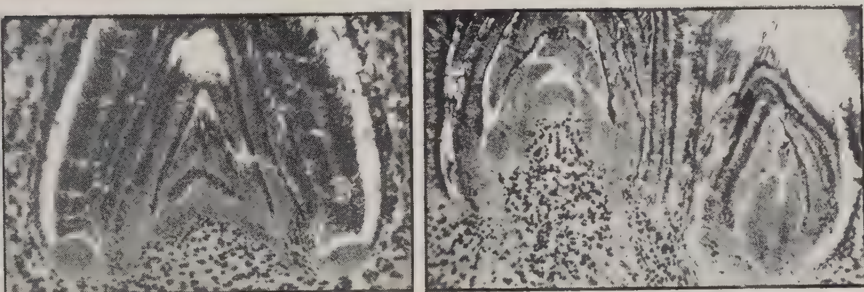
1 agosto (tav. I l): la superficie degli abbozzi fiorali presenta, all'interno della serie dei primordi del calice, una seconda serie di prominenze mammellonari appena differenziate che si debbono ritenere corrispondenti agli abbozzi dei petali.

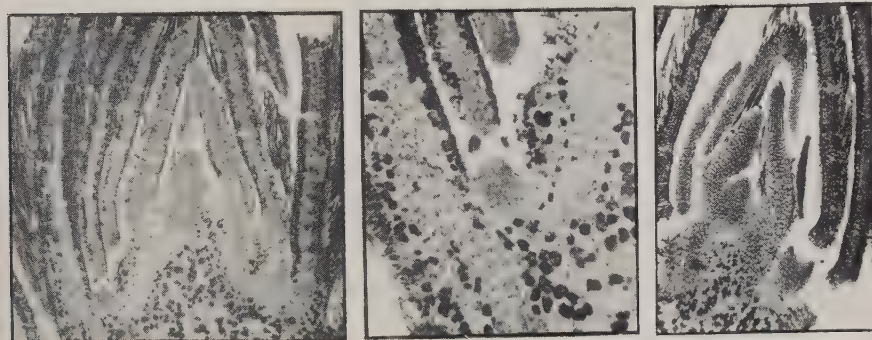
10 agosto 1951-5 febbraio 1952: nei successivi prelevamenti, effettuati dopo il 1° agosto, le gemme non hanno presentato alcuna ulteriore modifica nella struttura degli abbozzi fiorali. L'evoluzione di questi ultimi subisce dunque un arresto assai precoce e notevolmente anticipato rispetto all'inizio del riposo vegetativo di tutto l'albero.

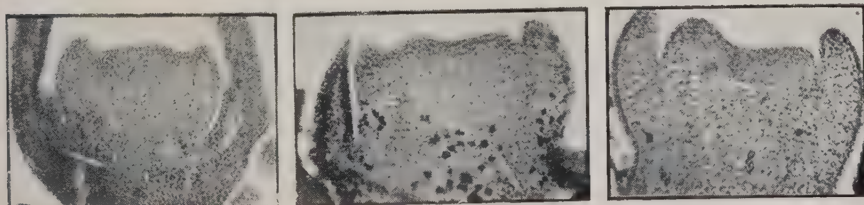
---

* Il 9 luglio 1952, l'esame microscopico delle gemme ha confermato l'avvenuto inizio della loro differenziazione.









Differenziazione delle gemme

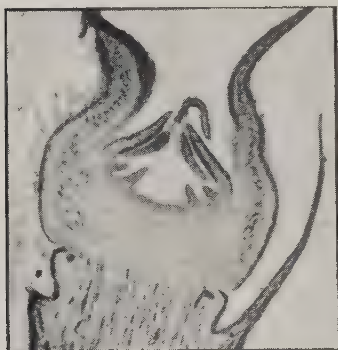
a: 25 marzo (× 65); b: 15 aprile (× 50); c: 5 maggio (× 50); d: 15 maggio (× 45); e: 15 giugno (× 45); f: 30 giugno (× 45); g: 30 giugno (× 105); h: 10 luglio (× 45); i: 20 luglio (× 80); l: 1 agosto (× 80); m: 5 febbraio (× 80).



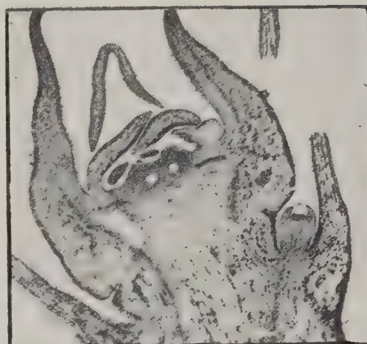
a



b



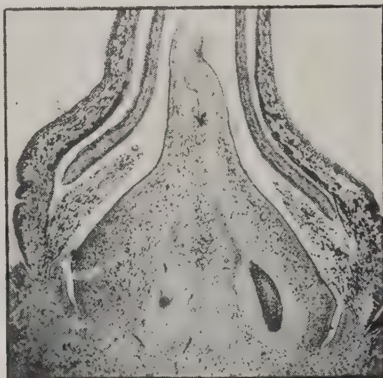
c



d



e



f

Evoluzione degli organi fiorali
a: 28 febbraio (× 70); b: 10 marzo (× 70); c: 25 marzo (× 45);
d: 15 aprile (× 45); e: 25 aprile (× 10); f: 5 maggio (× 15).

Evoluzione degli organi fiorali

15 febbraio 1952: dopo il periodo di quiescenza le gemme riprendono il loro sviluppo.

28 febbraio (tav. II a): in questo stadio i sepali appaiono più chiaramente differenziati, si allungano e tendono ad inclinarsi verso l'asse del fiore. I primordi dei petali sono ancora rappresentati da abbozzi mammellonari molto primitivi.

10 marzo (tav. II b): prosegue l'evoluzione dei sepali che si appiattiscono e tendono ad assumere la conformazione laminare definitiva. Anche i petali sono ora più nettamente definiti nella loro struttura fogliosa. Inoltre, sul fondo dell'orciòlo, compaiono delle protuberanze che corrispondono ai primordi degli staminodi*.

25 marzo (tav. II c): i sepali ed i petali sono perfettamente allungati. Anche gli staminodi si sono allungati e presentano l'aspetto di espansioni digitiformi inserite alla base dei petali. Contemporaneamente fanno la loro comparsa anche i primordi dei carpelli.

5-15 aprile (tav. II d): gli abbozzi carpellari si congiungono e delimitano le logge dell'ovario.

Inferiormente al boccio fiorale, all'ascella di ciascuna delle due lacinie che sono inserite in posizione opposta sul peduncolo, è possibile riconoscere, in questo stadio, un abbozzo fiorale secondario (tav. II d), sempre poco evoluto dal punto di vista morfologico e destinato ad abortire negli ulteriori stadi di sviluppo del fiore principale. Il significato di questi abbozzi secondari appare chiaro allorchè si consideri la morfologia fiorale di quelle rare piante, già segnalate dal Morettini (1947), le quali, pur appartenendo sempre alla specie *Diospyros kaki*, presentano, a differenza delle razze comunemente coltivate, anche fiori unisessuali maschili. Questi ultimi si trovano infatti riuniti in infiorescenze generalmente triflore i cui elementi sono inseriti, appunto, all'ascella di piccole lacinie identiche a quelle già descritte poc'anzi per i fiori unisessuali femminili del kaki tipo (fig. 5). I fiori femminili, pertanto, risultano solitari in via secondaria, dal punto di vista ontogenetico, poichè tale loro condizione è attribuibile al precoce aborto dei fiori collaterali di una originaria infiorescenza triflora.

25 aprile-5 maggio (tav. II e, f): il fiore ha terminato la sua evoluzione ed è ormai completo in tutte le sue parti. L'ovario è sormon-

---

* È noto che la razza «Kaki tipo», come pure le altre comunemente coltivate nel nostro Paese, sono provviste di soli fiori femminili per sterilità delle antere (Morettini, 1947).

tato dallo stilo e nelle singole logge sono differenziati gli ovuli. Tra gli staminòdi e l'ovario è presente una corona di piccole protuberanze che probabilmente sono da riferire ai nettarii, generalmente presenti nei fiori la cui impollinazione è assicurata dagli insetti.

16 maggio: ha inizio la fioritura. Al momento dell'antesi il fiore è costituito dal calice, verde lucente, composto di quattro sepali saldati alla base; dalla corolla bianca avorio, formata da quattro petali che, nei fiori in boccio, sono avviluppati a spirale sul pistillo a guisa di cono protettivo; l'androceo è rappresentato da circa otto staminodi le cui antere sono esteriormente normali ma internamente prive di tessuto sporigeno, sostituito da parenchima sterile. L'ovario è globoso, diviso in otto logge e sormontato da uno stilo breve e papilloso, quadripartito.

La schiusura dei fiori avviene con un movimento rotatorio sinistrorso dei petali che si dispiegano e quindi si estroflettono scoprendo il pistillo (fig. 6). Al termine della fioritura, il tubo corollino si dissecca e viene distaccato ed espulso per effetto della pressione esercitata dall'ovario in accrescimento. Per ogni pianta l'antesi ha una durata media di circa dieci giorni.

Conclusioni

Le ricerche illustrate nella presente nota hanno permesso di chiarire la prima fase del ciclo di fruttificazione del kaki, dall'inizio della differenziazione delle gemme all'antesi.

Dalle osservazioni condotte negli anni 1951 e 1952 sulla razza Kaki tipo è emerso che i primordi fiorali cominciano a differenziarsi a partire dalla prima decade di luglio, allorquando l'asse del fiore si appiattisce e si introflette determinando così la formazione degli abbozzi dei sepali. Compaiono quindi, in breve volger di tempo, anche i petali ma successivamente l'evoluzione dei fiori si arresta per cui, al sopraggiungere del riposo autunno-vernino, si trovano differenziati solo quei verticilli che nel fiore non assolvono alcuna funzione strettamente connessa con l'atto riproduttivo.

Solo nella primavera seguente, con la ripresa dell'attività vegetativa dell'albero, nell'interno delle gemme miste e sul germoglio che da queste si sviluppa, si differenziano anche i rimanenti primordi fiorali; in tal modo, con la comparsa degli staminodi e dei carpelli e con la formazione degli ovuli nell'interno delle logge, si completa rapidamente anche lo « stadio sessuale » del ciclo di differenziazione del fiore che diviene così maturo per l'antesi.

Il processo evolutivo dei primordi fiorali nel kaki diverge pertanto da quello che è stato riscontrato per le drupacee e per le pomacee che, pur



FIG. 5. – S o p r a : fiori femminilli di « Kaki tipo »; s o t t o : infiorescenze triflore ad elementi unisessuali maschili, prelevate da una pianta monoica di *Diospyros kaki*.

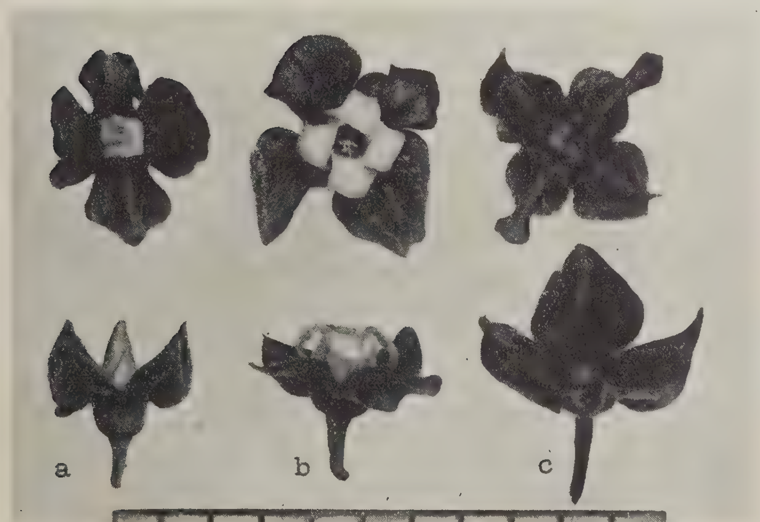


FIG. 6. – Stadî successivi della fioritura nel kaki. a: fiori in boccio; b: piena antesi; c: fine fioritura.

iniziando la differenziazione delle gemme nei primi mesi estivi, e quindi contemporaneamente al kaki, completano la differenziazione di tutti gli organi fiorali prima del riposo vernino.

Dal punto di vista pratico, tuttavia, la conoscenza dell'epoca in cui ha inizio il processo di differenziazione delle gemme del kaki consente di stabilire, anche per questa specie, norme più precise circa l'applicazione di tutte quelle pratiche colturali, che notoriamente agiscono sulla produttività dell'albero, in rapporto al compiersi dei vari stádi del ciclo di fruttificazione.

In particolare, le norme pratiche dedotte dalle esperienze compiute per stabilire l'influenza esercitata dalle varie operazioni colturali, specialmente dalla potatura e dalla concimazione, sulla differenziazione delle gemme di quegli alberi da frutto che iniziano tale processo biologico nella stessa epoca del kaki, potranno essere vantaggiosamente estese a quest'ultima specie, in attesa che ulteriori, specifiche ricerche possano fornire risultanze più approssimate sulla tempestività e sulla intensità delle operazioni colturali, in modo da influire positivamente, con crescente sicurezza ed efficacia, sul destino delle gemme in via di differenziazione.

RIASSUNTO

Le ricerche condotte nel 1951 e 1952 sulla razza di diospiro « Kaki tipo » hanno permesso di accertare che, nelle condizioni climatiche della pianura di Firenze, la differenziazione delle gemme ha inizio nella prima decade di luglio. Dopo la formazione dei primordi dei sepali e dei petali l'evoluzione degli organi fiorali si arresta fino al febbraio dell'anno successivo; a partire da tale epoca riprende la differenziazione degli organi fiorali ed alla metà di maggio ordinariamente si verifica l'antesi.

SUMMARY

BLOSSOM-BUD DIFFERENTIATION IN THE PERSIMMON *DIOSPYROS KAKI* L.

by Enrico Baldini

Investigations carried out in 1951 and 1952 on the persimmon horticultural variety 'Kaki tipo', have shown that the first indication of the fruit-bud differentiation appears in the first ten days of July. From this

time the primordia of the calix and those of the corolla have been observed; thereafter the blossom-bud evolution rests till the following February. From the end of this month the floral differentiation is resumed and the anthesis generally occurs by the middle of May.

BIBLIOGRAFIA

AGATI, G. Contributo allo studio delle gemme dell'olivo. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1951, n. s., vol. V.

BALDINI, E. I danni delle gelate primaverili alle piante da frutto nella primavera 1949. *Rivista dell'Ortoflorofrutticoltura Italiana,* 1949, 5-6.

BUGINI, F. Vigoria, differenziazione delle gemme, fruttificazione e loro rapporto nelle piante arboree da frutto. *Rivista della Soc. Tosc. di Orticoltura,* 1939, n. 5.

BUGINI, F. La differenziazione delle gemme nelle piante arboree da frutto. *Rivista di Frutticoltura,* 1939, 271-280.

CONDIT, I. J. The kaki or oriental persimmon. *Calif. Agr. Expt. Sta. Bull. 316,* 1919.

DOTTI, F. Recenti vedute sulla potatura dei fruttiferi. *Atti del III Congresso di Frutticoltura,* Ferrara, 1950.

YASUI, K. Studies on *Diospyros kaki. Bot. Gaz.,* 1915, 60.

MANARESI, A. Trattato di viticoltura. Bologna, 1947.

MORETTINI, A. Importanza dell'epoca di differenziazione delle gemme legnose in gemme fiorifere nell'olivo. *L'Olivicoltore,* 1937.

MORETTINI, A. La biologia fiorale e di fruttificazione delle varietà di diospiro o kaki. *Rivista della Soc. Tosc. di Orticoltura,* 1947, 1-2.

MORETTINI, A. La influenza della fecondazione dei fiori sulla cascola dei frutti di diospiro o kaki. *Rivista dell'Ortoflorofrutticoltura Italiana,* 1948, 1-2.

MORETTINI, A. Il kaki. Roma, R.E.D.A., 1949.

NAGUCHI, Y. Metaxenia in the Japanese persimmon. *Japan. Journ. Bot.,* 1943.

NAMIKAWA, I., SISA, M., and ASAI, K. On the flower types of *Diospyros kaki. Japan. Journ. Bot.,* 1932.

NATIVIDADE, J. V. A diferenciação e a evolução dos gomos florais das fruiteiras. *Junta Nacional das Frutas. Boletím,* 1948, 3: 359-71.

SCARAMUZZI, F. Ricerche sulle cause di insuccesso dell'innesto «ad occhio dormiente» nel kaki. *Annali della Sperimentazione Agraria,* 1952, n. s., vol. VI.

Ricevuto il 15 luglio 1952.

PREPOSTO ALLA PUBBLICAZIONE: GIULIO TRINCHIERI

(9203443) *ROMA - ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO - 1953*

Finito di stampare il 15 aprile 1953

SUPPLEMENTO AGLI
ANNALI DELLA SPERIMENTAZIONE AGRARIA
1953, nuova serie, vol. VII, num. 2

STAZIONE SPERIMENTALE DI MAISCOLTURA
(Direttore: Luigi Fenaroli)
BERGAMO

LUIGI FENAROLI

NOTE SU L'ECOLOGIA E LA DISTRIBUZIONE DEI PIOPPI IN ITALIA *

I presupposti fondamentali per una razionale pioppicoltura sono insiti innanzi tutto nella conoscenza delle entità botaniche che si fanno oggetto di coltivazione e poi in quella delle rispettive esigenze circa i fattori ambientali, cioè della loro ecologia.

I caratteri ecologici di una qualsiasi specie possono essere precisati mediante lo studio approfondito del suo areale naturale in rapporto all'intera gamma di variazione dei diversi fattori ambientali che nel medesimo si verificano, venendosi in tal modo a determinare sia l'ottimo che gli estremi della possibilità vegetativa della specie in esame; anche all'infuori dell'areale naturale possono ricorrere condizioni ambientali, cioè di clima e di terreno, confacenti alla favorevole vegetazione di una determinata specie, e il loro riconoscimento dà all'uomo la possibilità di estenderne la coltivazione, se si tratta di specie d'interesse economico, determinando in tal modo l'affermarsi di un areale economico che di norma è più vasto dell'areale naturale.

Questo vale anche per i pioppi, alberi d'interesse economico notevole, di antichissima coltivazione, per i quali è però difficile o talora impossibile

---

* Le illustrazioni che integrano questa nota sono dovute alla collaborazione della Stazione sperimentale di Selvicoltura di Firenze, e in particolare al dott. Ernesto Allegri che le ha delineate: esse erano allegate a una nota sulle « Specie e varietà del gen. *Populus* indigene in Italia », presentata nel maggio 1952 in occasione della Sesta Sessione della Commissione Internazionale del Pioppo della F.A.O., a Roma. In tutte le illustrazioni, che seguono, gli schizzi a sinistra sono ricavati dalla rara pubblicazione di L. A. Dode; quelli a destra sono originali e ricavati da materiale fresco o di erbario. Le illustrazioni sono riprodotte alla scala 1:2.

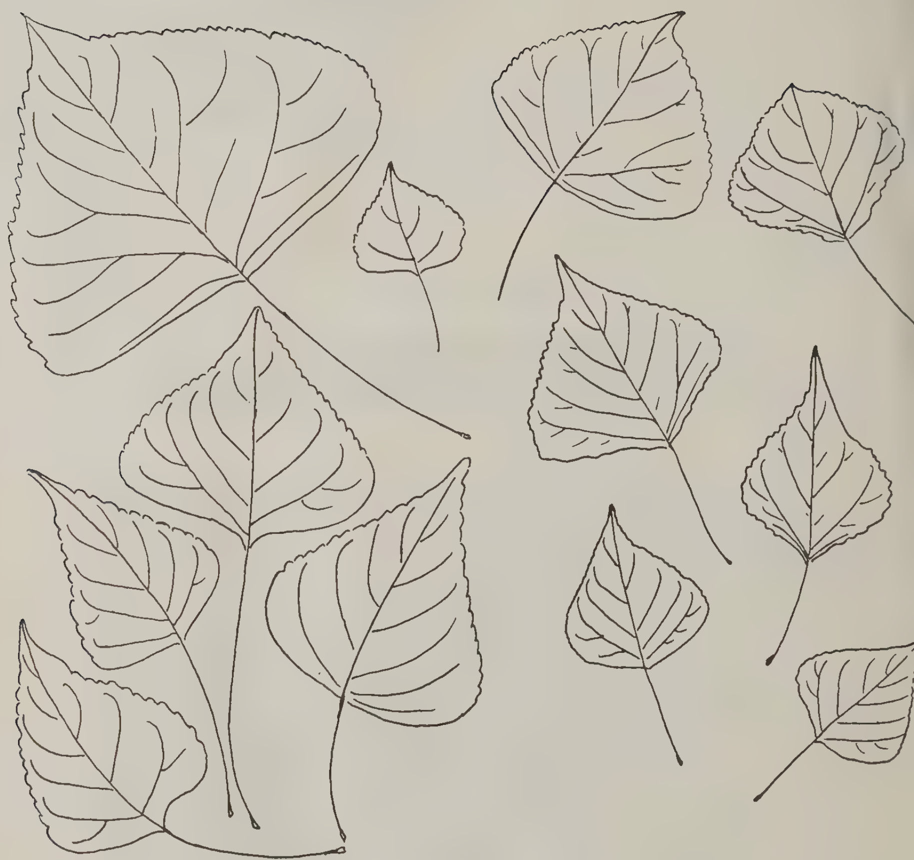


FIG. 1. – ***Populus nigra*** L. var. ***typica*** SCHNEIDER

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

identificare gli areali naturali delle singole specie, i cui limiti sono stati ampiamente trasgrediti a ragion veduta o forse più spesso per tentativi più o meno fortunati fino a costituire gli attuali areali economici che si estendono alla quasi totalità dei paesi temperati sia dell'emisfero boreale che di quello australe. Basti il pensare all'ambiente pioppicolo italiano nel quale si sono largamente affermate specie esotiche di elevatissimo rendimento, mentre quelle indigene pur non mancando talora di incontestabili pregi hanno in oggi un'importanza piuttosto secondaria.

Una delle maggiori difficoltà connesse al problema pioppicolo è quella della esatta conoscenza botanica delle specie e delle entità in sottordine, difficoltà che è insita nella notevole plasticità del genere, ovviamente differenziantesi in epoche recenti, e ancora in fase di fissazione, e della quale ognuno può trovare facile conferma raffrontando i lavori monografici di:

Schneider, K. A. (1904). *Populus*. In Illustriertes Handbuch der Laubholzkunde, I.

Dode, L. A. (1905). Extraits d'une monographie inédite du genre *Populus*.

Ascherson, P., u. Graebner, P. (1908). *Populus*. In Synopsis der mitteleuropaeischen Flora, IV.

Houtzagers, G. (1937). Het geslacht *Populus* in verband met zijn beteekenis voor de houtteelt *

per non citare che alcuni degli studi più importanti e specifici. La complessità del genere, che a ragione può essere annoverato fra quelli critici, e la confluenza fra le varie entità sono tali che il significato stesso di specie è stato talora svisato assumendo valore soggettivamente convenzionale, come p. es. in Dode (l. c.), le cui specie possono essere considerate del rango delle specie elementari o jordaniane.

Queste eccessive suddivisioni e frammentazioni delle specie linneane, a loro volta frequentemente troppo comprensive, aumentano le difficoltà inerenti a una circonstanziata precisazione delle rispettive caratteristiche ecologiche.

Queste brevi note sono limitate alle sole specie indigene e non rappresentano che un saggio di indagine sulla loro distribuzione in Italia e una breve sintesi delle loro esigenze ecologiche; ma l'argomento, fino ad oggi non specificamente affrontato o inadeguatamente approfondito, è vivo di interesse sia dal punto di vista sistematico sia da quello fitogeografico e avrà utili ripercussioni nel campo pratico della pioppicoltura per le conclusioni alle quali sarà possibile giungere.

---

* In traduzione italiana:
HOUTZAGERS, G. Il genere *Populus* e la sua importanza nella selvicoltura (trad. ital. a cura del prof. L. Fenaroli). Casale Monferrato, 1950 (Biblioteca Scientifica Cartiere Burgo, vol. III).

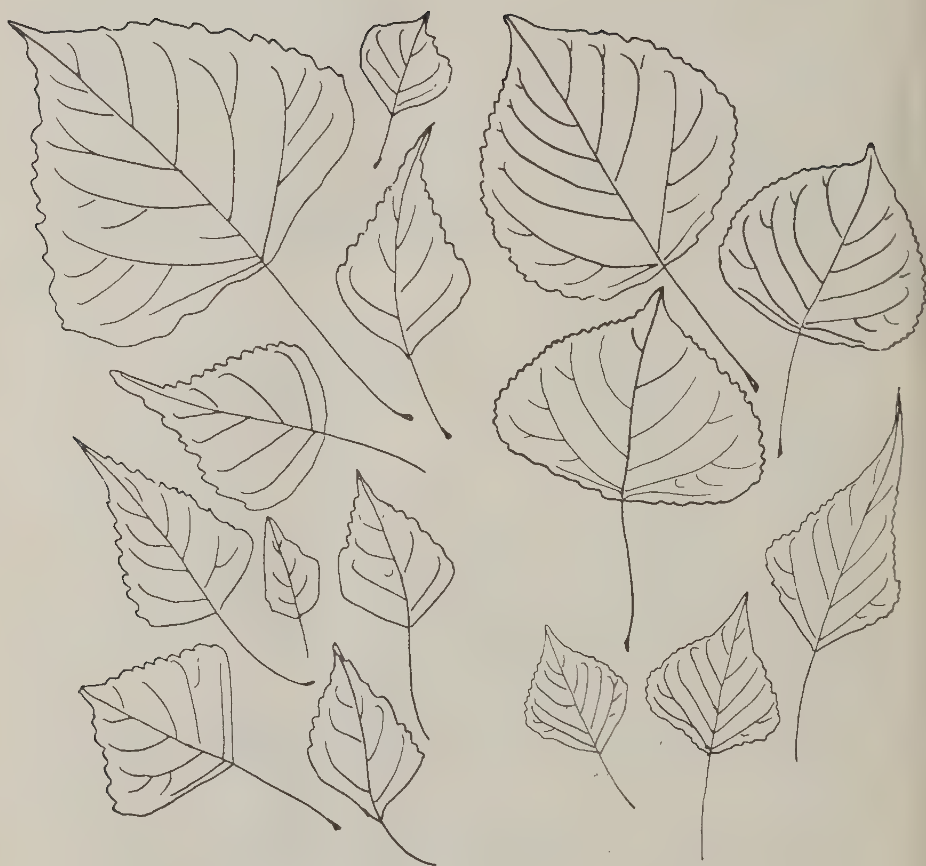


FIG. 2. – ***Populus nigra*** L. var. ***europaea*** ASCH. ET GR.

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

A. — La distribuzione geografica delle specie indigene in Italia

La flora italiana annovera fra i pioppi tre specie e un ibrido, ulteriormente discriminabili in 18 entità minori, varietà e forme, per la maggior parte considerate dal Dode come specie.

Queste entità sono tutte considerate dal Fiori nella sua *Nuova Flora analitica d'Italia,* alla quale rimandiamo per la discriminazione. Per parte nostra abbiamo iniziato uno stralcio delle varie notizie sparse nella letteratura botanica al fine di redigere un elenco delle stazioni finora segnalate per le singole entità, dal quale sarà poi possibile determinare con una sufficiente precisione la effettiva loro distribuzione nel nostro Paese.

Con le presenti note presentiamo quindi un

1° elenco di stazioni italiane del gen. *Populus* *

(1) *Populus nigra* L. (1753).
Areale: Europa, Asia occ. fino Himalaya e Siberia fino agli Altai.
(1) var. *typica* Schneider (1904).
(= *P. nigra* Dode (1905); *P. nigra* L. var. *dodeana* A. et G. (1908). **(Fig. 1)**.
Areale: come la specie.
Habitat: lungo i corsi d'acqua e nei luoghi umidi, talora anche nei terreni detritici asciutti, dal mare fino all'orizzonte delle latifoglie sciafile; in Italia sino a 1350 m, nella Penisola e nelle Isole.

Piemonte: Appennino piemontese nei boschi di sponda (Gola, 1913); Alba presso il Tanaro (Ferraris e Ferro, 1906; Ciferri e Streri apud Minio, 1926); Po morto fra Carignano e Moncalieri (Mussa, 1923); Rivoli (Noelli, 1926); Agro torinese (Mussa, 1931); lungo il Po, la Dora Baltea, e i corsi d'acqua attorno a Crescentino (Ferraris, 1900); Rondissone (Noelli, 1913); Castelletti di Castellamonte (Mussa, 1934); Aosta lungo la Dora, Aymaville (Mariani, 1909); Cuzzago Val d'Ossola (Chiovenda apud Pallavicini-Misciatelli, 1895); Trobaso (Chiovenda apud Pallavicini-Misciatelli, 1894).

Lombardia: Milano (Cobau, 1916); Milanese (Vandelli, 1763 et apud Provasi, 1924); tra San Macario e Fermo (Cozzi, 1917); Comascò (Comolli, 1824 et 1857); San Maurizio sopra Brunate (Vandelli, 1763); Grigne, dalla riva lacuale fino a 750 m fra Lecco e Abbadia, lungo il torrente Zerbo presso Abbadia, Ballabio Superiore, Primaluna, lungo la Pioverna presso Bindo (Geilinger, 1908); Valtellina (Massara, 1834; Comolli, 1857); Bergamasco (Rodegher e Venanzi, 1894); Bresciano, frequentissimo nei luoghi umidi e lungo le acque (Zersi, 1871); Pisogne (Fenaroli, 1923); Valcamonica (Penzig apud Arietti, 1944).

* Oss. — È stata omessa, per brevità, l'appendice bibliografica in quanto le fonti citate, per autori e date, sono identificabili nel *Bullettino bibliografico della Botanica italiana,* edito per i singoli anni dalla Società Botanica Italiana di Firenze.

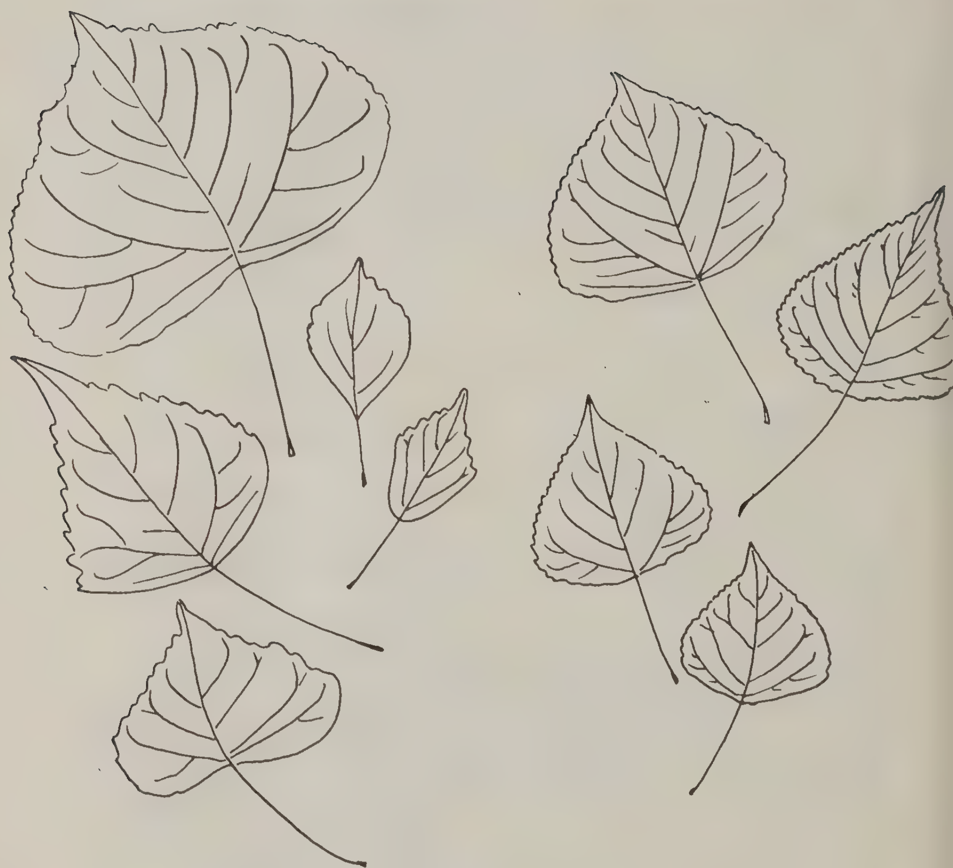


Fig. 3. – ***Populus nigra*** L. var. ***caudina*** Tenore

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Canton Ticino e Grigioni cisalpini: Canton Ticino (Comolli, 1857); Delta della Maggia al bosco Isolino (Jaeggli, 1922); Saleggio (Franzoni, Chenevard apud Jaeggli, 1922); Bellinzona (Jaeggli apud Minio, 1926); Mesocco (Jaeggli, 1940); sopra Zalende a 800 m e fra Zalende e Campocologno lungo il Poschiavino (Brockmann-Jerosch apud Braun-Blanquet e Ruebel, 1933).

Venezia Tridentina: Merano (Solla apud Minio, 1926); Bolzano (Pfaff apud Minio, 1926); Cavalese (Marchi apud Minio, 1932); sotto Pejo fino a 1350 m (Hegi); Trento (Dalla Fior apud Minio, 1926); Trentino, sui greti dei fiumi e in luoghi umidi fino a 1350 m circa (Dalla Fior, 1926).

Venezia Euganea: Priore di Monte Baldo a 1000 m (Goiran, 1898); presso Verona lungo l'Adige (Goiran, 1895); Cogolo (Massalongo, 1895); Vicenza (Marchente apud Minio, 1929); Este (Valsecchi apud Minio, 1934); Padova (Zenari apud Minio, 1926); Venezia (Minio, 1926); Noale (Gambarini apud Minio, 1932); Treviso (De Biasio apud Minio, 1934); Semonzo (Caldart apud Minio, 1927); Borso del Grappa (Girardi apud Minio, 1926); Crespano (Caldart apud Minio, 1927); Bellunese (Sandi apud Minio, 1926); rive del Piave da Perarolo al mare (Minio, 1910); Sedico (Sommariva apud Minio, 1926); Cordenons (Rossi apud Minio, 1934); dominante nella boscaglia mista degli acquitrini a letto ghiaioso e dei prati acquitrinosi presso la confluenza del Cellina col Meduna (Zenari, 1928); Cima Corso, Rivalpo, Studena, fino a 800-900 m (Gortani, 1906); Val Natisone (Minio, 1905).

Venezia Giulia: Trieste (Zirnich apud Minio, 1926); Fiume (Smoquina apud Minio, 1926).

Liguria: La Spezia (Vaccari apud Minio, 1926).

Emilia: Modena (Panini apud Minio, 1926); Bologna (Cobau apud Minio, 1929; greti del Reno da Bagno di Piano a Pracchia (Béguinot e Gabelli, 1915); presso il torrente Idice a Ronzano in terreni gessosi (Cobau, 1932); Ferrarese (Revedin, 1909); frequente in Romagna nei terreni freschi e lungo i corsi d'acqua (Nigrisoli e Zangheri); Faenza (Campidori apud Minio, 1928); Forlì (Zangheri, 1913); bosco di Ladino (Negri e Zangheri, 1934); Cesena (Raggi, 1904); Pinete Ravennate (Zangheri, 1928); Pinete di Classe e di Ravenna (Del Testa, 1897); Rimini (Del Testa, 1903).

Toscana: Lucca (Barsali, 1905); Valdinievole nei boschi cedui delle Cerbaje (Sandri e Fantozzi, 1895); Laghetto di Sibolla (Francini, 1936); Pontedera (Barsali, 1906); Monte Ceceri (Francini, 1932); San Giovanni Valdarno (Chiosi apud Minio, 1934); Borro di Sezzano (Montelucci, 1933); Monte Argentario (Sommier, 1911); Isola di Gorgona, colt. (Sommier, 1899); Isola di Capraja, colt. (Sommier, 1898); Isola d'Elba (Sommier, 1903; Baroni, 1907).

Marche: nell'Urbinate lungo il Foglia (Cengia-Sambo, 1929); Petriolo (Ciferri apud Minio, 1926).

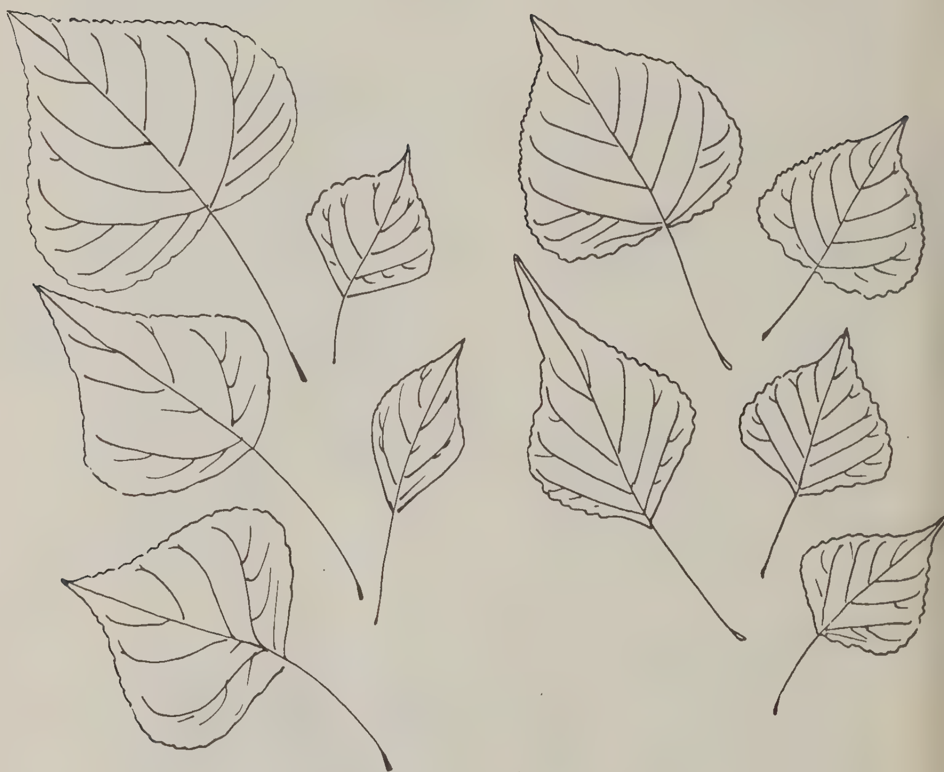


FIG. 4. – ***Populus nigra*** L. var. ***neapolitana*** TENORE

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Umbria: Perugia, Lago Trasimeno (Cicioni apud Barsali, 1931); Foligno, Bevagna, Rieti (Silvestri, Lai e Bianchini apud Barsali, 1931); Spoleto (Corazza apud Barsali, 1931); Orvieto (Calestani, 1907).

Lazio: Roma (Montelucci apud Minio, 1934); depositi alluvionali del Tevere (Béguinot, 1901); Anagni (Sibilia, 1924); Mainarde (Zodda, 1931).

Abruzzi e Molise: Campobasso (Villani, 1912).

Basilicata: Potenza (Gavioli apud Minio, 1926); Appenino Lucano nel gruppo dei Foy nelle formazioni palustri fra 800 e 1300 m; lago di Pignola, Pantani di Pignola, lungo il Basento e il Rio Freddo (Gavioli, 1934).

Puglie: Monte Crispiniano lungo il Cervaro e il Lavello (Trotter e Romano, 1914).

Calabrie: Saracena (Fioravanti apud Minio, 1926); Magna Sila dal mare ai primi dossi silani (Albo, 1926); Gerace Marina (Caldart apud Minio, 1929); Reggio Calabria (Pasquale, 1897).

Sicilia: Madonie lungo l'Imera meridionale e affluenti specialmente in contrada San Miceli, fino a 1000-1300 m (Albo, 1905); rive dell'Irminio fra Maestro e la foce (Albo, 1916).

Sardegna: nelle formazioni deltizie della pianura (Herzog, 1909).

(2) var. *europaea* Ascherson et Graebner (1908). **(Fig. 2)**.

(= *P. europaea* Dode (1905).

Areale: come la specie.

È una delle varietà o forme più comuni, alla quale sono certamente da riferirsi molte delle stazioni segnalate per la var. *typica* Schneider; mancano tuttavia segnalazioni specifiche.

Penisola e Isole (Fiori, 1923).

(3) var. *caudina* Tenore (1835-36). **(Fig. 3)**.

(= *P. caudina* Tenore (1842); *P. nigra* var. *pubescens* Parlatore (1867); *P. hispida* Hausskn. et Sint. (1899); *P. caudina* Dode (1905).

Areale: Italia sul versante tirrenico della Penisola dalla Toscana in giù (Fiori, 1933), Sicilia, Europa orientale.

Lazio: presso Roma (Cesati, Gibelli e Passerini, 1867).

Campania: presso Napoli (Schneider, 1904); in Irpinia a Cervinara, Arienzo, Alife (Tenore apud Trotter, 1905).

Sicilia: senza indicazioni specifiche di stazioni (Ascherson e Graebner, 1908; Fiori, 1923).

(4) var. *neapolitana* Tenore (1835-36). **(Fig. 4)**.

(= *P. dilatata* Aiton var. *neapolitana* (1830).

Areale: Italia meridionale, Balcani, Nordafrica.

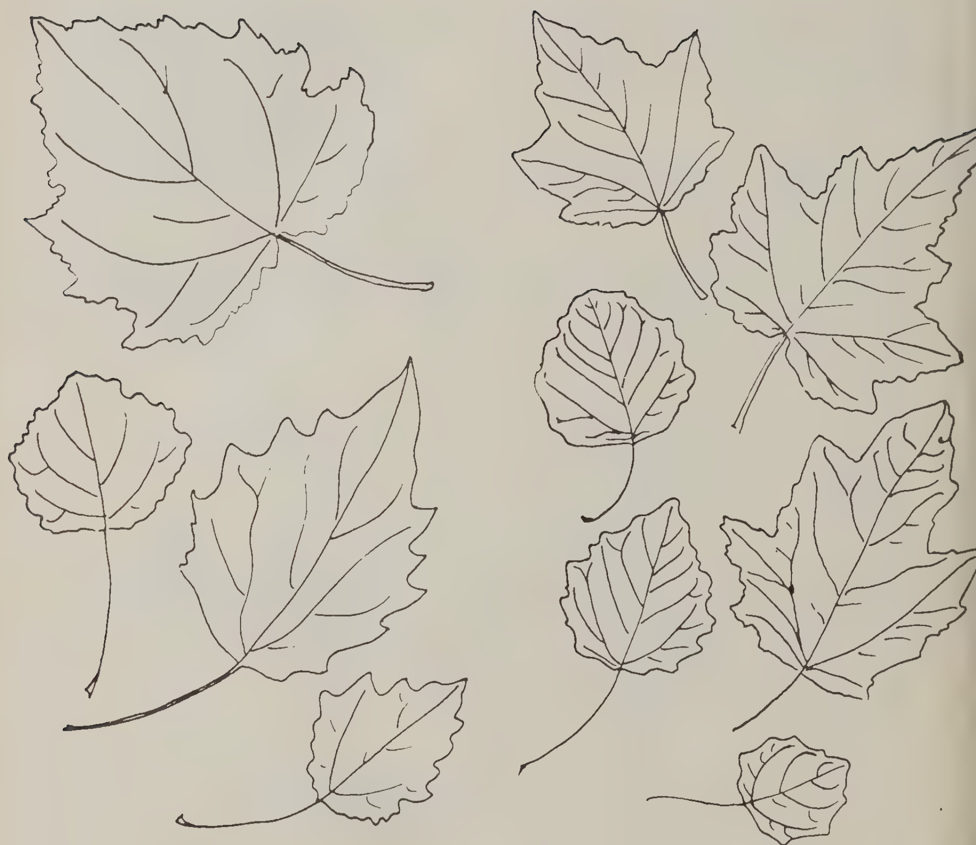


FIG. 6. – ***Populus alba*** L. var. ***genuina*** WESMAEL

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Piemonte: sui colli marnosi tra Serravalle e Gavi, a Voltaggio, nella Valle del Roverno a Mornese, lungo il Tanaro a Bagnasco, ai Giovetti (Gola, 1913); Alba presso il Tanaro, colli albesi (Ferraris e Ferro, 1906); Pinerolo, Rocca di Cavour (Crosetti e Fontana, 1911); Po morto Carignano e Moncalieri (Mussa, 1923); Rivoli (Noelli, 1926); Torino (Noelli, 1913); a Torino nel fossato di Palazzo Madama (Mattirolo, 1923); Agro Torinese (Mussa, 1931); Valsavaranche, fra Chevrère e Villeneuve (Mattirolo, 1928).

Lombardia: Milano (Cobau, 1916); Val d'Intelvi, Val Cavargna (Comolli, 1824); Grigne presso Cortenova (Geilinger, 1908); Valtellina (Massara, 1834); Bergamasco, nelle selve umide lungo i torrenti (Rodegher e Venanzi, 1894); Bresciano, nelle selve umide e lungo i fossi, spontanea frequentemente coltivata (Zersi, 1871).

Canton Ticino e Grigioni Cisalpini: presso la foce della Maggia (Jaeggli, 1922).

Venezia Tridentina: Trentino, lungo i corsi d'acqua e nei luoghi umidi fin verso i 1000 m (Dalla Fior, 1926); Valsugana a Castel Tevana (Dalla Fior, 1925).

Venezia Euganea: presso Verona lungo l'Adige (Goiran, 1895); Agro Veronese, Sandrà, Val Sorda, Rivoli Veronese, Caprino, Pesina, Ceraino alle falde del Pastello, Monte Tondo in Valpantena, Saline in Val d'Illasi, sino a 1000 m sul Monte Baldo sotto ai Coltri (Goiran, 1898); Bellunese (Sandi apud Minio, 1912); rive del Piave da Perarolo a Ponte nelle Alpi, dal Ponte di Fener a Zenson e fino alle dune litoranee (Minio, 1910); nella boscaglia mista degli acquitrini a letto ghiaioso e dei prati acquitrinosi del Friuli occidentale (Zenari, 1928); Friuli e Carnia a Cavazzo, Tolmezzo e Caneva (Gortani, 1906); Val Natisone (Minio, 1905).

Venezia Giulia: Wippachtal (Pospichal, 1897).

Emilia: greti e sponde del Reno bolognese (Béguinot e Gabelli, 1915); Croara e Ronzano nei terreni gessosi (Cobau, 1932); Ferrarese (Revedin, 1909); Forlì (Zangheri, 1913); pinete Ravennate (Zangheri, 1928); Pineta di Classe, ivi assai abbondante, e presso Ravenna (Del Testa, 1897); Cesena, litorale fra Cervia e Bellaria (Raggi, 1904); pineta di Cervia e litorale di Rimini (Del Testa, 1903).

Toscana: Marina di Pisa e Tombolo (Francini e Pardi-Riccadonna, 1936); Lucca (Barsali, 1905); Bassa Valdinievole (Sandri e Fantozzi, 1895); Laghetto di Sibolla (Francini, 1936); Livornese in Val Benedetta (Preda, 1895); Monte Ceceri (Francini, 1932); Masso delle Fate (Corti, 1934); Valdarno superiore presso Rignano (Montelucci, 1933); Isola di Gorgona, coltivata (Sommier, 1899).

Umbria: Perugia, Isole del Trasimeno (Cicioni, Terracciano apud Barsali, 1931); Foligno (Lai apud Barsali, 1931); Bevagna, Spoleto, Massa Martana (Corazza, Silvestri apud Barsali, 1931); Fiume Nera a Terni (Barsali, 1931); Orvieto (Calestani, 1907 e apud Barsali, 1931).



Fig. 7. – ***Populus alba*** L. var. ***comesiana*** Asch. et Gr.

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Lazio: presso Roma (Cuboni apud Brizi, 1895); depositi alluvionali del Tevere (Béguinot, 1901); argini del Fiume Teppia presso Torre Tre Ponti, Selva di Terracina, ivi prevalente con *Alnus glutinosa, Fraxinus excelsior, Quercus robur, Q. farnetto* e *Q. pseudosuber* nel bosco di alto fusto (Béguinot, 1934).

Basilicata: Appennino Lucano nei Monti della Maddalena al Lago Pignola (Gavioli, 1934).

Calabrie: Sila a Cariati e Pietrapaola (Albo, 1935); Catanzaro fra l'Antenna e il Fiume Alli (Micheletti, 1896).

Sicilia: nelle Madonie lungo il Fiume Petralia e affluenti fino a 1100-1200 m in terreni sabbiosi (Albo, 1905).

Sardegna: nei terreni deltizi della pianura (Herzog, 1909); San Pantaleo presso Cagliari (Cavara apud Cecconi, 1901); Santa Margherita di Pula (Cavara, 1901); tra Oristano e il Ponte sul Tirso (Fiori, 1913).

Malta: Ghirghenti, Boschetto, Ujed il Rum, Bingemma, Bahria (Sommier e Caruana-Gatto, 1915); Ujed il Baruni (Guglia, 1877).

Gozo: Migiarro (Sommier e Caruana-Gatto, 1915); Xlendi, Ujed il Kasab (Guglia, 1877).

(7) var. *comesiana* Ascherson et Graebner (1908). **(Fig. 7)**.
(= *P. comesiana* Dode (1905)).
Areale: Italia meridionale e Grecia.

Calabria: nella Sila a Pietrapaola con il tipo (Albo, 1935).

(8) var. *epirotica* Ascherson et Graebner (1908). **(Fig. 8)**.
(= *P. epirotica* Dode (1905).
Areale: Italia meridionale e Balcani.

Basilicata: Appennino Lucano nel gruppo del Foy nelle formazioni palustri (Gavioli, 1934).

(9) var. *floccosa* Ascherson et Graebner (1908). **(Fig. 9)**.
(= *P. floccosa* Dode (1905).
Areale: Italia ed Europa Orientale.

Lazio: nelle Mainarde lungo il Mollarino in esemplari cespugliosi, non comune (Zodda, 1931).

(10) var. *hickeliana* Fiori (1923). **(Fig. 10)**.
(= *P. hickeliana* Dode (1905)).
Areale: Spagna, Nordafrica, Sardegna.

Sardegna: presso Oristano e nel Campidano (Fiori, 1923-1933).

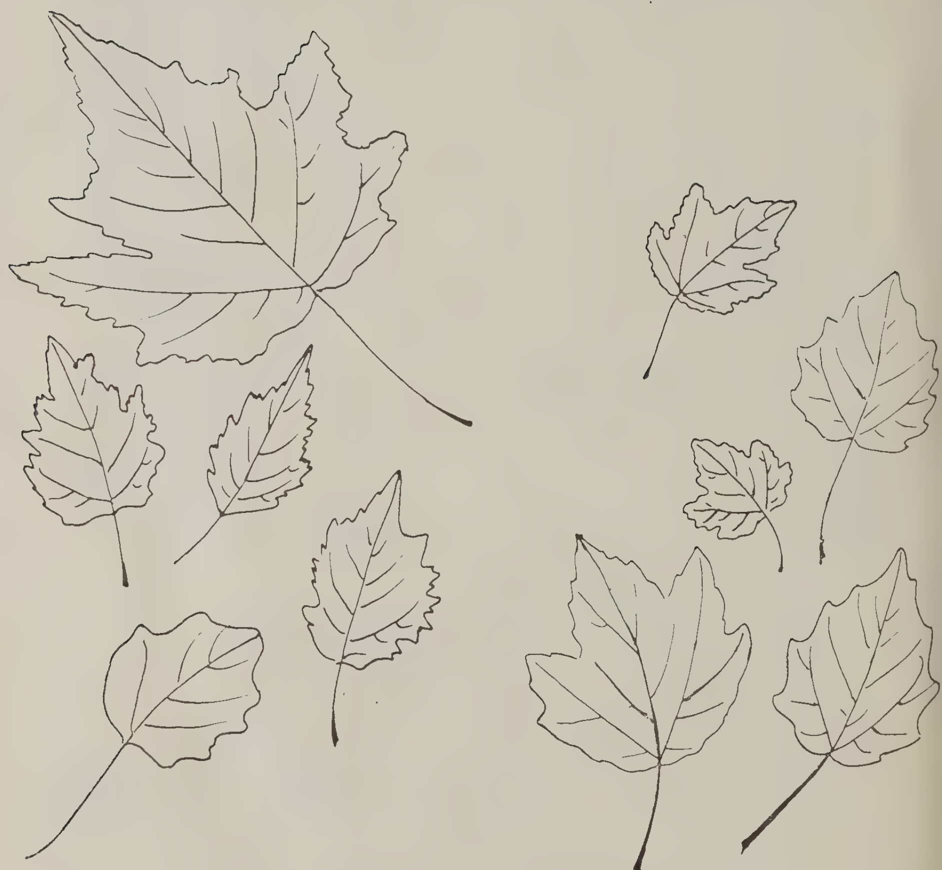


FIG. 8. – ***Populus alba*** L. var. ***epirotica*** ASCH. ET GR.

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

(11) var. *nivea* Willd. (1796). **(Fig. 11).**
(= *P. acerifolia* Lodd. (1838); *P. candicans* Lodd. (1838); *P. arembergica* Lodd. (1838); *P. alba* var. *Salmonii* (1868); *P. alba* var. *nivea* Dippel (1892); *P. nivea* Dode (1905)).
Areale: Europa orientale, Turkestan; spesso coltivata.

Emilia: Predappio nuova al Fosso della Trivella (Fiori, 1933).

Corsica: (Fiori, 1923).

(12) var. *palmata* Ascherson et Graebner (1908). **(Fig. 12).**
(= *P. palmata* Dode (1905)).
Areale: Penisola Iberica, Italia, Balcani.

Umbria: presso Perugia e sulla spiaggia occidentale del Lago Trasimeno (Cicioni apud Barsali, 1931).

(13) var. *peroneana* Ascherson et Graebner (1908). **(Fig. 13).**
(= *P. peroneana* Dode (1905); *P. alba* var. *peroneana* Fiori (1923)).
Areale: Francia, Italia, Balcani, Russia.

Toscana: Firenze alle Cascine, coltivata lungo l'Arno (!).

Basilicata: Appennino Lucano lungo il Basento e il Riofreddo (Gavioli, 1927 e 1934); nel gruppo del Foy nelle formazioni palustri, nei pantani di Pignola, a Petrale dell'Arioso (Gavioli, 1934); nei Monti della Maddalena lungo il torrente Sciffra, nel Vallone delle Carcare, fra 900 e 1200 m (Gavioli, 1931).

(3) *Populus tremula* L. (1753).
Areale: Europa, Asia occidentale, centrale e settentrionale, Nordafrica.
Habitat: nei luoghi boschivi umidi degli orizzonti delle latifoglie eliofile e sciafile e delle aghifoglie, più eccezionalmente negli orizzonti inferiori e superiori, in Italia fino a 2100 m nella Penisola e nelle Isole.

(14) var. *typica* Koehne (1893). **(Fig. 14).**
(= *P. tremula* Dode (1905); *P. tremula* L. var. *dodeana* Rouy (1910)).
Areale: come la specie.

Piemonte: Appennino Piemontese a Monte Moro presso Gavi, nella valle del Gorzente. a Muraglie presso Bagnasco (Gola, 1913); circondario di Alba nei boschi per Diano (Ferraris e Ferro, 1904); Pinerolo alla Rocca Cavour (Crosetti e Fontana, 1911); Rivoli (Noelli, 1926); collina di Torino, ivi rivestente in modo discontinuo le stazioni a terreni umidi e sabbiosi, ombrofoba (Negri, 1907); Agro Torinese (Mussa, 1931); Sulpiano, Colle di Verrua (Ferraris, 1900); Castelletti di Castellamonte (Mussa, 1934); Aosta a Feline (Bolzon, 1918); Valpelline tra Valpelline e Doues (Traverso, 1912); Aymaville (Mariani, 1909); Valsavaranche tra Chevrère e Villeneuve (Mattirolo, 1908).

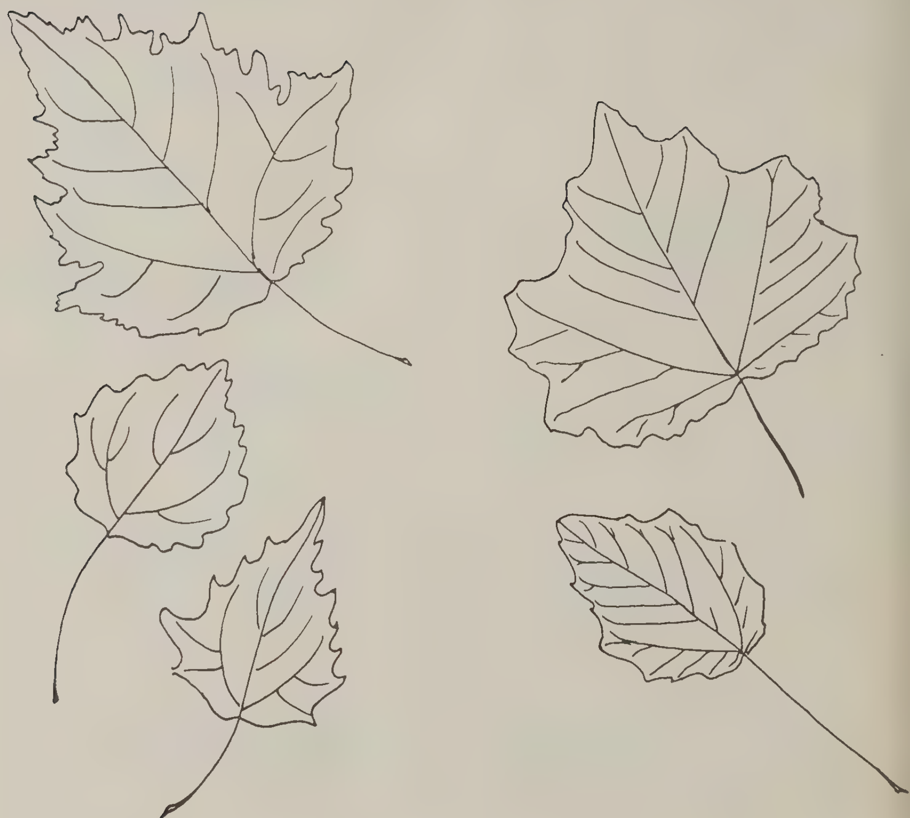


FIG. 9. – ***Populus alba*** L. var. ***floccosa*** ASCH. ET GR.

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Lombardia: Milanese nel Boscaccio di S. Macario (Cozzi, 1917); Como a Borgo S. Agostino (Vandelli, 1763); Val d'Intelvi (Comolli, 1824); Grigne in Val Cariola fino a 1900 m di fronte a Introbio, Val Cagnoletta, Val del Crot, sul verrucano sopra Bajedo, versante nord del Monte Albiga (Geilinger, 1908); Monti di Barzio e Cremeno (Vandelli, 1763); Chiavennasco e Val Bregaglia nelle fustaie e nei cedui (Fenaroli, 1936); Valtellina (Comolli, 1857); convalli di Val Malenco (Massara, 1834); Triangia presso Sondrio nel *Coryletum* a 1180 m (Brockmann-Jerosch, 1907); Valli Venina, Livrio, Cercia, e Madre nei boschi di Faedo; Albosaggia, Caiolo, Cedrasco, Fusine e Colorina, fra i 500 e 1300 m in esposizione nord, su gneiss e micascisti, in mescolanza con castagno, larice, peccio, pino silvestre e betulla (Fenaroli, 1936); Adrara (Rodegher e Venanzi, 1894); Bresciano, frequente (Zersi, 1871); Pisogne (Fenaroli, 1923); nei cedui di Bienno in Val delle Valli, Val Grigna, Val Bonina, Val Salom, Val Palone, e Val Renina (Fenaroli, 1936); nelle peccete in sinistra di Val d'Avio fra 1200 e 1700 m (Fenaroli, 1936); boschi del Monte Concarena sopra Losine, terreno calcareo, 800 m (Penzig apud Arietti, 1944); boschi presso il Lago Moro, sull'arenaria rossa, 400 m (Penzig apud Arietti, 1944); nelle peccete a Cascina Piazze sopra Braone, terreno granitico, 900 m (Penzig apud Arietti, 1944).

Canton Ticino e Grigioni Cisalpini: In destra del Maggia (Jaeggli, 1922); Val Mesolcina a Roveredo (Brügger apud Seiler); sopra Grono a 500 m (Steiger); presso Oltra (Walser); sopra Mesocco a 1000-1200 m (Jaeggli, 1940); Santa Maria in Calanca (Braun-Blanquet apud Braun-Blanquet e Rübel, 1933); Val Bregaglia nel *Coryletum* presso Roticcio a 1300 m e fino a 1530 m (Braun-Blanquet e Geiger apud Braun-Blanquet e Rübel, 1933); Val Poschiavo su rocce primarie alla Motta d'Ur fino a 1500 m con portamento arboreo e fino a 1950 m arbustivo (Brockmann-Jerosch).

Venezia Tridentina: a Bolzano nei cedui (Dalla Torre, 1913); Serrada nei boschi verso Folgaria, Finonchio e Guardia (Cobelli, 1894); nei lariceti di Roncone a 900 m esposizione ovest e nelle peccete di Pieve di Bono in destra di Val Daone fra 700 e 1700 m su substrati diversi (verrucano, tonalite, calcari dolomitici) (Fenaroli, 1936); frequente nel Trentino fino a 1500 m nei boschi radi specialmente in prossimità dei corsi d'acqua (Dalla Fior, 1926).

Venezia Euganea: presso Verona lungo l'Adige (Goiran, 1895); tra Venezia e Masser (Micheli apud Pampanini, 1912); Bellunese (Sandi apud Minio, 1912); rive del Piave tra Lozzo, Sappada, e S. Stefano, a Ponte delle Alpi (Minio, 1910); gruppo Schiara-Pelf (Zenari, 1934); Val Pentina, Val-l'Arcola, Val Cimoliana (Zenari, 1923); Val Clautana, dorsale Punta Ziada Pala della Mussa, 650-1900 m su calcare (Zenari, 1923); Barcis, Pian delle Losie, 750-850 m su arenarie (Zenari, 1923); in Val Cellina costante nella faggeta e a Costra Colovan nella boscaglia a quercie (Zenari, 1925); sotto Cas. Forchiutta e Chiampet fino a 1400-1500 m (Gortani, 1906); Val Natisone (Minio, 1905).

Venezia Giulia: raro presso Monfalcone (Gortani, 1906).



FIG. 10. – ***Populus alba*** L. var. ***hickeliana*** FIORI

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Liguria: nell'Appennino a Busalla; Colle di Melogno (Gola, 1913).

Emilia: Bolognese a Miserazzano presso Croara nei terreni gessosi (Cobau, 1932); pineta di Ravenna (Del Testa, 1897; Zangheri, 1928); Cesena (Raggi, 1904); Rimini (Matteini apud Del Testa, 1903).

Toscana: Valdinievole nei cedui dall'Arno ai monti più alti (Sandri e Fantozzi, 1895); nei cedui castanili fra Vallombrosa e Tosi, 600-700 m, terreno siliceo (Fiori, 1906 in Fl. It. Exs. n. 427); Valdarno a Castelfranco (Sestini apud Chiosi, 1935); Valdarno superiore in Marnia (Montelucci, 1933); Monte Argentario (Sommier, 1903); Isola d'Elba fra San Pietro in Campo e S. Giovanni (Sommier, 1902); Isola del Giglio al Dolce (Doria apud Sommier, 1903).

Marche: lungo il Foglia e ai Cappuccini (Cengia-Sambo, 1929).

Umbria: Isola minore del Trasimeno (Cicioni apud Barsali, 1929); Monte Malbe (Cicioni apud Barsali, 1931); Bevagna (Silvestri apud Barsali, 1931); Fosso di S. Marino (Palomba apud Barsali, 1931); Rieti (Bianchini apud Barsali, 1931).

Lazio: depositi alluvionali del Tevere (Béguinot, 1901), Lago di Canterbo (Béguinot apud Sibilia, 1924); Laghi di Anticoli (Béguinot, 1900).

Abruzzi e Molise: Monte Sirente a 1000-1200 m (Furrer, 1928).

Campania: Bagnoli Irpino (Casali e Ferraris, 1901); Isola di Nisida (Béguinot, 1901); Isola di Procida (Béguinot, 1905).

Calabrie: Sila nella pineta della Foresta Demaniale Camere Chiuse (Fiori, 1919); presso Garga, Felicetta e Camigliati (Trotter, 1901); Aspromonte (Pasquale, 1897).

Corsica: Valle di Bastelica (Requien, 1847).

(15) var. *australis* Fiori (1923). **(Fig. 15).**
(= *P. australis* Tenore (1830); *P. graeca* Grisebach (1844)).
Areale: Italia meridionale.

Campania: Capri (Béguinot, 1905).

Basilicata: Appennino Lucano nei monti della Maddalena ad Arioso fino a 1500 m (Gavioli, 1931); nella cerreta di Petrale dell'Arioso fra 1000 e 1300 m e nella parte inferiore della Faggeta (Gavioli, 1934).

(16) var. *villosa* Lang (1830). **(Fig. 16).**
(= *P. villosa* Lang (1824); *P. tremula* var. *typica* forma *sericea* Koehne (1893)).
Areale: Europa, Asia occidentale e centrale.



Fig. 11. – ***Populus alba*** L. var. ***nivea*** Willd.

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Lombardia: Grigne a Ballabio Superiore e a C. il Campon (Geilinger, 1908); Val Calepio sul Monte Bronzone (Chenevard apud Rodegher, 1920).

Venezia Euganea: Monte Baldo tra la Salveregina e Ime, colline veronesi (Goiran, 1898).

Toscana: Vallombrosa (Fiori, 1923).

Nota. — Il Goiran (1898) segnala per l'Altissimo di Nago una var. *parvifolia,* non meglio definita; è presumibile che questa entità possa essere identificata con il *P. tremula* var. *typica* forma *microphylla* A. Br. Herb. in Schneider (1904), ma questa nostra presunzione richiede una conferma.

(4) 2 × 3 *Populus alba* × *tremula* Krause (1848), Ascherson (1864). **(Fig. 17).**

(= *P. canescens* Smith (1805); *P. hybrida* M. Bieb. (1818); *P. tremula* × *alba* Schneider (1904)).

Areale: Europa meridionale e orientale, Asia minore, inter parentes.

Habitat: lungo i corsi d'acqua e nei luoghi umidi, in Italia nella penisola specialmente al nord.

(17) var. *genuina* nobis (1944).

Piemonte: Castiglione Falletto (Vignolo-Lutati, 1922).

Lombardia: Ticino fra Vigevano e Pavia (Rota, 1847); Comasco in Val d'Intelvi (Comolli, 1857); Valtellina nel Piano di Faedo e Piateda (Massara. 1834); selve lungo l'Adda e l'Oglio (Rodegher e Venanzi, 1894); Bresciano, rara qua e là lungo i fossi (Zersi, 1871).

Venezia Tridentina: in Valsugana alle Spagolle e Borgo (Dalla Fior, 1925).

Venezia Euganea: raro nei luoghi sabbiosi sotto Rivoli Veronese; al confine della provincia di Verona con quella di Mantova (Goiran, 1898); Costermano alla Colombarola (Goiran, 1901); rive del Piave a Ponte delle Alpi (Minio, 1910).

Venezia Giulia: in Val Rosandra fra Dolina e Boljunc, presso Capodistria e Miralonda, sull'Isola Morosini, presso Russis, Pieris e Centinara (Pospichal, 1897).

Emilia: Cadelbosco sotto nel Reggiano (Casali, 1899).

Lazio: nell'agro Pontino sugli argini del fiume Teppia (Béquinot, 1934); depositi alluvionali del Tevere (Béquinot, 1901).

Umbria: presso Perugia e sulla spiaggia occidentale del Lago Trasimeno (Cicioni apud Barsali, 1931). Il Barsali ritiene che questi esemplari del Cicioni siano da ascriversi invece a *P. alba* var. *palmata* A. et G. (cfr. 12).



Fig. 12. – ***Populus alba*** L. var. ***palmata*** Asch. et Gr.

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

(18) var. *lobata* Parlatore.
Areale: da determinarsi.

Lombardia: presso Cremona (Cesati, Gibelli e Passerini, 1867).

Emilia: nel Parmigiano (Cesati, Gibelli e Passerini, 1867).

Al termine di questo primo elenco di stazioni italiane di pioppi indigeni, rilevato dallo stralcio di un primo complesso di pubblicazioni botaniche, periodiche o non, possiamo già svolgere a titolo di commento alcune considerazioni di carattere generale, rilevando innanzi tutto il diverso valore probatorio, e la conseguente diversa possibilità di proficua utilizzazione, delle singole segnalazioni. Riteniamo a questo riguardo di poterle distinguere in tre gruppi di merito:

il primo di questi è caratterizzato da indicazioni troppo vaghe e generiche; tali segnalazioni potranno tutt'al più servire a stabilire eventuali collegamenti fra altre stazioni meglio note e con questo intendimento non abbiamo ritenuto di doverle trascurare e le abbiamo ugualmente riportate nel nostro elenco;

il secondo, che è anche il più numeroso, è caratterizzato da indicazioni topograficamente meglio precisate e però mancanti di quell'indispensabile corredo di notizie stazionali e cenotiche che sole permettono di poterci formare un quadro sufficientemente circostanziato del fenomeno in esame;

il terzo e ultimo gruppo infine, per vero limitato in numero, è caratterizzato da segnalazioni, oltrechè precise, sufficientemente documentate, per cui possono effettivamente servire come buona base di riferimento per il lavoro di sintesi al quale siamo intesi.

Una certa riserva deve essere fatta nei riguardi tassonomici per le stazioni ascritte alle varietà così dette tipiche o genuine, in quanto vennero a queste ascritte tutte le segnalazioni delle specie non meglio analizzate con ulteriori discriminazioni di varietà o forme; non è da escludersi che entità di valore tassonomico subordinato alla specie abbiano potuto insinuarsi fra queste per un non meglio approfondito esame da parte dei singoli ricercatori.

Riteniamo invece di poter riconoscere pieno valore probativo, sulla fede dei singoli autori, alle stazioni citate per tutte le altre varietà o forme che non siano le cosidette tipiche o genuine, in quanto chiaramente designate dagli stessi autori.

Quando con il sussidio di ulteriori elenchi e contribuzioni ci sarà possibile disporre di un complesso di segnalazioni adeguato per numero, densità distributiva e corredo di particolari al compito prefisso, sarà agevole riconoscere con l'auspicata approssimazione gli areali delle singole entità e sulla base dei caratteri ambientali ivi ricorrenti determinare con maggior cognizione di causa l'ampiezza di variazione delle loro esigenze ecologiche.

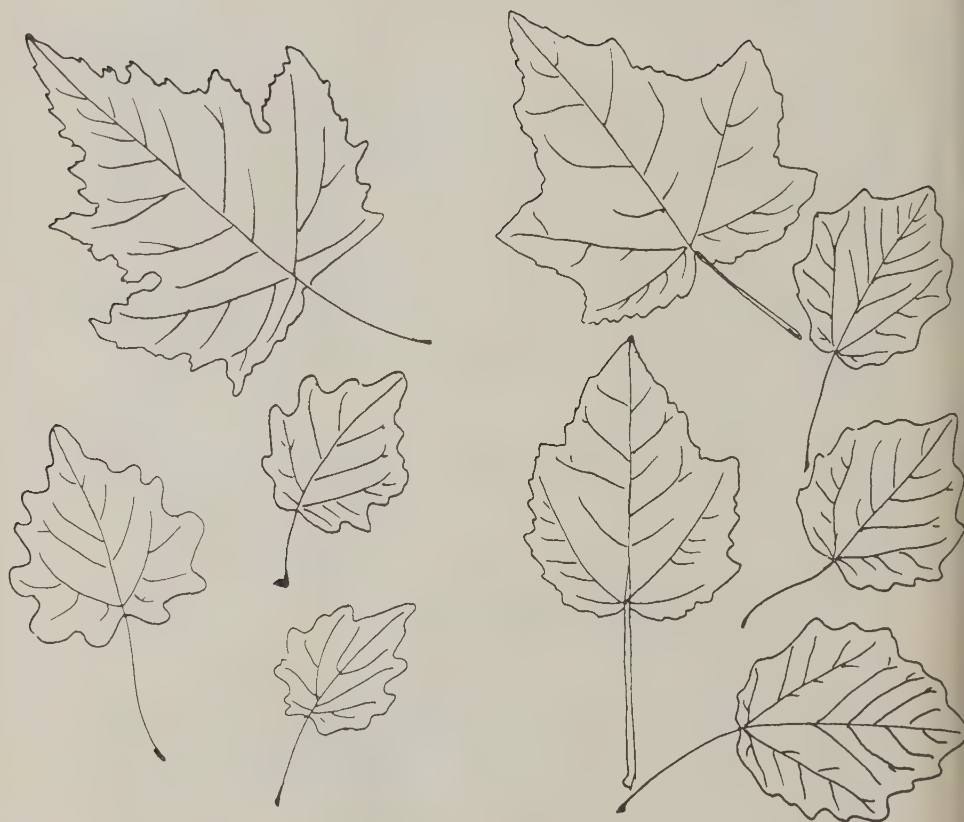


Fig. 13. – ***Populus alba*** L. var. ***peroneana*** Asch. et Gr.

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Allo stato attuale delle nostre conoscenze non riteniamo che si possa per il momento andare oltre l'enunciazione di alcuni caratteri ecologici di più generale e comprensiva portata, quali passiamo a considerare nella seconda parte di questa nota.

B. — I caratteri ecologici delle specie indigene in Italia

Per quanto concerne le esigenze ecologiche dei pioppi mal si apporrebbe chi ritenesse di poter considerare globalmente tutte le specie attribuendo loro identità di esigenze sia nei riguardi del clima che del terreno, se pure il quadro è dominato da aspetti generali comuni o convergenti.

Effettivamente le circa 100 specie note del genere *Populus* rivelano già per il loro areale complessivo, circoscritto alle zone temperate dei due emisferi, il carattere comune di piante mesotermofile legate ai terreni alluvionali permeabili, freschi o umidi; ma le singole specie rivelano alla loro volta predilizione o esigenza di condizioni particolari che è necessario considerare caso per caso, limitando anche qui per ora il nostro esame alle sole specie nostrali indigene.

Il *P. alba*, il cui vastissimo areale si estende dall'Europa centro-meridionale fino all'Himalaya e al Nord fino al 68° di latitudine boreale in Norvegia, è un elemento costante dell'associazione *Populcto-Salicetum* che caratterizza il settore meridionale del dominio delle pianure dell'Europa temperata nei terreni di ripa sia dei grandi fiumi che dei minori corsi d'acqua in una con le loro isole periodicamente soggette a sommersione e i terreni marginali di natura alluvionale e permeabile. I principali costituenti floristici di questa associazione, che è caratterizzata da una notevole omogeneità, sono:

Populus alba, P. nigra, Salix alba, S. fragilis, S. incana, S. purpurea, S. viminalis, Alnus glutinosa, A. incana, Myricaria germanica, Hippophae rhamnoides, Typha latifolia, Sparganium ramosum, Phragmites communis, Scirpus lacustris, Carex stricta, Juncus squarrosus, Lythrum salicaria, Lycopus europaeus, Eupatorium cannabinum.

A questi si aggiungono nella regione mediterranea, così p. es. nella Selva di Terracina (Béguinot, 1934), *Fraxinus excelsior, Quercus robur, Q. farnetto* e *Q. pseudosuber.*

Il *P. alba* è inoltre un costituente floristico delle praterie naturali umide e non rifugge dal colonizzare anche i terreni alluvionali asciutti affermandosi nel piano basale fino nell'orizzonte delle latifoglie eliofile, eccezionalmente più in alto. Non è dunque strettamente vincolato nella sua distribuzione ai soli terreni idricamente più favoriti, seppure in



Fig. 14. – ***Populus tremula*** L. var. ***typica*** Koehne

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

quelli asciutti e magri assuma con facilità un portamento più ridotto e sovente arbustivo.

Circa la natura fisico-chimica del terreno le condizioni ottimali di vegetazione del *P. alba* sono da identificarsi nei terreni profondi, sciolti, fertili, freschi o umidi (e però non sommersi), siliceo-argillosi o siliceo-umosi.

Il *P. nigra* ripete all'incirca i medesimi caratteri distributivi ed ecologici del *P. alba*; lo ritroviamo infatti nel *Populeto-Salicetum* accanto alla specie precedente (cfr.) sulla quale talora predomina specialmente lungo i grandi corsi d'acqua, dove costituisce spesso estesi popolamenti, e come la specie precedente vegeta altresì nelle praterie umide, nella boscaglia mista prealpina e nei terreni alluvionali asciutti innalzandosi in questi fino al piano montano nell'orizzonte delle latifoglie sciafile.

La sola differenza di carattere ecologico nei confronti del *P. alba* può essere ravvisata in una sua più accentuata eliofilia, la quale si rende manifesta nella sua maggior frequenza nei fondi-valle aperti e di esposizione meridiana e nella sua attitudine a colonizzare come specie pioniera i relitti fluviali e le isole ancora carenti di vegetazione, nonchè nei terreni declivi i detriti di falda e i macereti; in rapporto a questi ultimi merita di essere segnalato il preferenziale e frequente insediamento del *P. nigra* nei terreni detritici di riporto e discarica delle cave di pietra, a carattere estremamente arido e permeabile.

I terreni che offrono alla specie le migliori condizioni di vegetazione sono anche in questo caso quelli di natura siliceo-argillosa.

La var. *italica*, pur avendo i medesimi caratteri ecologici della specie, è più sensibile di questa alle avversità d'ordine climatico tali le gelate precoci o tardive e i forti freddi invernali, e meteorico, essendo più soggetta ai danneggiamenti da fulmine, specialmente se in individui isolati, e da venti e uragani che possono facilmente stroncare sradicare e abbattere gli alberi.

Il *P. tremula* è fra le specie nostrali quella che presenta la maggior latitudine di adattamento ecologico; una prima conferma ci è data dal suo vastissimo areale che si estende a tutta l'Eurasia, dall'occidente europeo all'estremo oriente e in latitudine dal Nordafrica alla Scandinavia, fino al 71° di latitudine boreale; ma anche nell'ambito del nostro Paese questa grande adattabilità ci è confermata dalla sua lata distribuzione dalle rive del mare fin verso i 2000 m. d'altitudine nelle Alpi, nei consorzi forestali più eterogenei, dai cedui castanili alla boscaglia mista prealpina, dal *Coryletum* alle fustaie di aghifoglie, nei terreni più diversi, dalle sabbie litoranee ai terreni aridi delle brughiere, dalle fertili alluvioni alle aride pendici detritiche e sassose delle Prealpi e delle Alpi.

Tuttavia l'ambiente ottimale di vegetazione di questa specie è determinato da un clima temperato caldo a elevato grado igrometrico e da

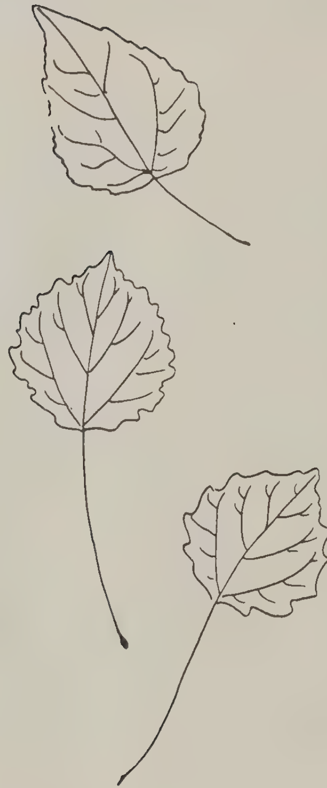


Fig. 15. – ***Populus tremula*** L. var. ***australis*** Fiori

(E. Allegri del.)

terreni forestali freschi e ricchi di humus oppure siliceo-argillosi; in tali ambienti la specie assume veramente il suo tipico aspetto e portamento di albero forestale; mentre ove non ricorrano queste circostanze di favore, come nei terreni di carattere estremo per aridità o acidità e nelle stazioni molto battute dai venti, presenta uno sviluppo irregolare, ridotto e arbustivo, con fusti brevi e fortemente ramificati. Da nostre osservazioni non sembra potersi escludere che alla determinazione di questo habitus degradato, assai più frequente di quanto forse non si ritenga, concorra anche l'azione antropica con le sue intense e frequenti utilizzazioni dei cedui, quali si verificano nel nostro ambiente prealpino a elevata densità di popolazione e in tempi di eccezionale ricerca e consumo di prodotti legnosi.

Il tremolo ha caratteri di pianta spiccatamente eliofila, sì che anche nei consorzi forestali si afferma di preferenza nelle radure e nelle fratte rase.

In senso fitogeografico il *P. tremula* è elemento caratteristico del settore settentrionale del dominio delle pianure dell'Europa temperata, in contrapposto al *P. alba* che abbiamo già visto caratterizzarne il settore meridionale.

A titolo di sintesi possiamo affermare che i pioppi nel loro complesso, quali alberi a foglia caduca, appartengono a un caratteristico tipo di vegetazione (*Therodrymia*) dei paesi a clima temperato, atti tuttavia, per sostituzione ai fattori climatici di fattori edafici di particolare favore (luce e soprattutto ricca disponibilità di acqua) a penetrare profondamente anche nei paesi a clima più caldo (il Ruebel cita la presenza di pioppi, e nel caso specifico del *P. euphratica*, in pieno ambiente sahariano, a Beni Ounif in Algeria e nell'Oasi di Siwa). Secondo la nomenclatura di Clements (1902) essi possono essere ecologicamente definiti alberi orgadofili, mesofili, mesotermofili, eliofili, neutrofili e melangeofili. Una graduatoria fra le singole specie nostrali nei confronti di questi caratteri ecologici ci sembra possa essere stabilita per valori decrescenti come segue:

orgadofilia (= attitudine a vivere in popolamenti arborei radi):
P. nigra, P. tremula, P. alba
mesofilia (= elezione di ambienti mediamente umidi).
P. alba, P. tremula, P. nigra
mesotermofilia (= elezione di ambienti mediamente temperati):
P. nigra, P. alba, P. tremula
eliofilia (= elezione di ambienti a elevata luminosità):
P. tremula, P. nigra, P. alba
neutrofilia (= elezione di terreni a reazione neutra):
P. nigra, P. alba, P. tremula
melangeofilia (= elezione di terreni alluvionali permeabili):
P. nigra, P. alba, P. tremula.

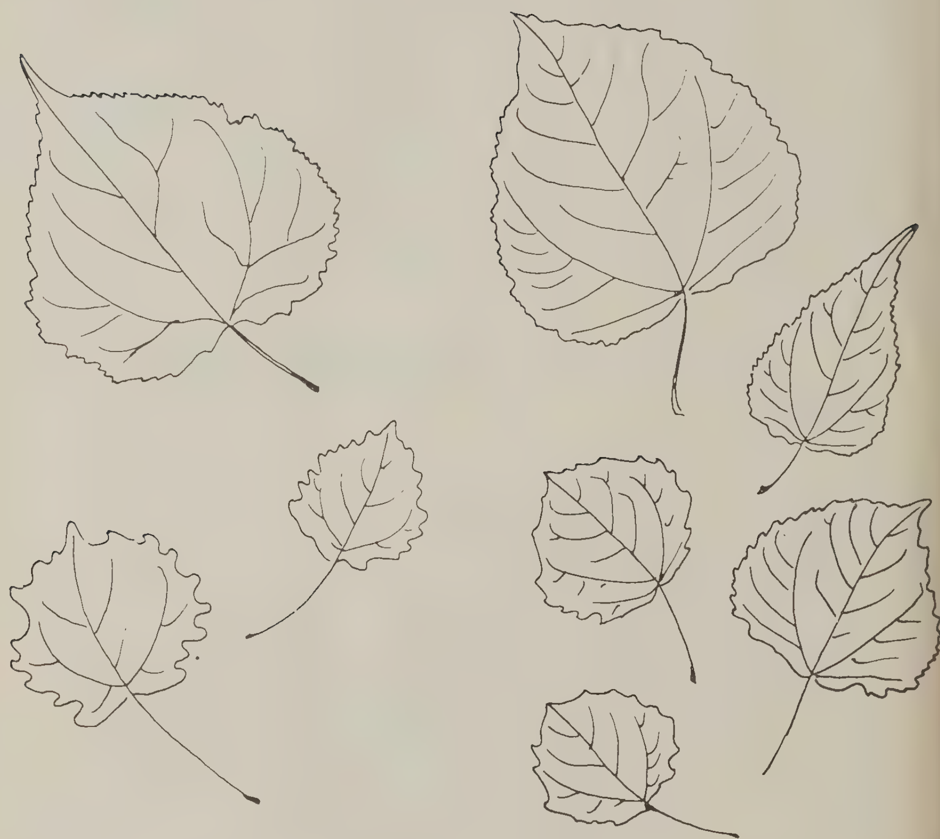


FIG. 16. – ***Populus tremula*** L. var. ***villosa*** LANG

(sec. L. A. Dode) (E. Allegri del.)

Da queste premesse di carattere generale possiamo già trarre alcune considerazioni pratiche attinenti la pioppicoltura. Il nostro Paese, interamente compreso in ognuno degli areali delle tre specie indigene considerate, presenta ovunque nel piano basale e in parte di quello montano caratteristiche climatiche favorevoli alla vegetazione dei pioppi; queste condizioni climatiche di generale favore trovano però una sensibile limitazione nelle caratteristiche fisiologiche ed edafiche. I pioppi non sono delle igrofite e neppure delle xerofite, anche se occasionalmente possono sopportare bene delle prolungate sommersioni o vegetare a regime ridotto in ambienti siccitosi; le loro possibilità colturali, che per ovvie ragioni di tornaconto economico sono strettamente subordinate a condizioni ottimali di ambiente e devono prescindere a priori dagli ambienti d'eccezione, sono pertanto limitate ai terreni di pianura normalmente umidi e freschi, quali ci sono dati dai terreni di ripa e alluvionali, profondi, sciolti, permeabili, fertili e di natura siliceo-argillosa o siliceo-umosa.

Nei terreni eccessivamente ricchi di acqua i pioppi possono talvolta vegetare altrettanto bene, in particolare se le acque sono circolanti e pertanto ben aereate e ad energica azione ossidante, ma di norma di legno che si ottiene in tali ambienti è di più scarso valore. Una correzione di questi terreni è possibile mediante opportune sistemazioni (lavori di sgrondo, di mazzuolatura, ecc.), il cui tornaconto è però da determinarsi caso per caso in base a considerazioni d'ordine economico.

Nei terreni di elevata acidità la coltivazione dei pioppi è pure da sconsigliare perchè destinata *a priori* all'insuccesso economico a motivo del rallentato ritmo dei processi vitali nel terreno per deficienza di ossigeno.

Per ovvie considerazioni dovranno pure scartarsi i terreni magri e poveri, quelli aridi e siccitosi, e quelli troppo superficiali che non superino almeno il mezzo metro di profondità anche se notoriamente i pioppi sono caratterizzati da uno sviluppo radicale prevalentemente orizzontale e poco profondo.

La rapidità di accrescimento dei pioppi, fattore sul quale punta con ogni mezzo l'*homo oeconomicus* per esaltarlo agli estremi limiti concessi dalle leggi di Natura, richiede il concorso di tutti i fattori ecologici nelle loro manifestazioni più favorevoli.

Considerati pertanto sotto l'aspetto di organismi ad altissimo rendimento i pioppi sono da annoverarsi fra gli alberi di grandi esigenze e come tali richiedono da parte del pioppicultore l'osservanza e l'adozione di razionali e precise norme colturali, eminenti fra le quali è l'oculata scelta della stazione d'impianto sulla base delle considerazioni d'ordine ecologico che abbiamo svolto.

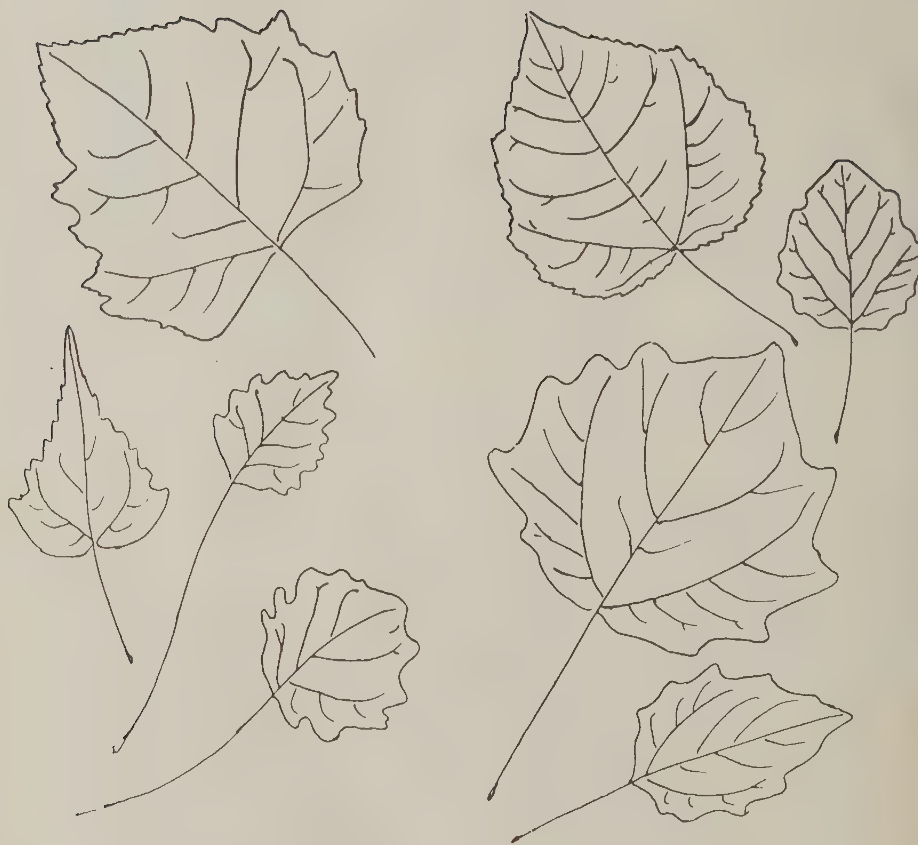


Fig. 17. – ***Populus canescens*** Smith (= ***P. alba*** × ***tremula*** Krause)

(sec. L. A. Dode). (E. Allegri del.)

Indice delle specie, varietà e forme

RIASSUNTO

Attraverso lo stralcio di un primo gruppo di lavori botanici viene indagata la distribuzione dei pioppi indigeni in Italia e delle loro varietà; sulla base di queste notizie distributive vengono tratte alcune conclusioni di portata generale sulla ecologia dei diversi pioppi.

SUMMARY

NOTES ON THE ECOLOGY AND DISTRIBUTION OF POPLARS IN ITALY

by Luigi Fenaroli

On the basis of the statements of a first group of botanical publications the distribution of the indigenous poplars in Italy and their varieties are studied; and some conclusions of a general nature on the ecology of the different kinds of poplars in Italy are given.

Ricevuto il 26 giugno 1952.

PREPOSTO ALLA PUBBLICAZIONE: GIULIO TRINCHIERI

(9203443) *ROMA - ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO - 1953*

Finito di stampare il 15 aprile 1953

NORME PER I COLLABORATORI

1. – Sono accolti per la pubblicazione negli *Annali della Sperimentazione Agraria* unicamente i lavori originali, a carattere sperimentale, eseguiti negli Istituti di sperimentazione agraria dipendenti dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste ovvero eseguiti presso altre istituzioni con sovvenzioni dello stesso Ministero.
I lavori, di norma, non debbono superare 32 pagine di stampa. Le tabelle, le fotografie e i disegni debbono essere ridotti allo stretto necessario.

2. – I lavori di cui si chiede la pubblicazione debbono essere inviati alla Redazione degli *Annali della Sperimentazione Agraria* (Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste, Direzione Generale della Produzione Agricola) redatti nella forma definitiva e dattilografati; saranno trasmessi alla Redazione suddetta insieme con una lettera di accompagnamento firmata dal direttore dell'Istituto da cui essi provengono. Gli originali non saranno restituiti agli autori.

3. – I nomi scientifici (latini) di piante e animali debbono essere scritti — eccezion fatta per la lettera iniziale dei nomi dei generi e di determinate specie — in lettere minuscole e sottolineati.
I nomi delle varietà (non latini) debbono essere scritti in lettere minuscole, non sottolineati, e fra virgolette.
I nomi degli autori citati nel testo, nonchè le parole o frasi su cui si desidera di richiamare l'attenzione del lettore, debbono essere contrassegnati con una linea spezzata (---------).
Gli autori sono pregati di non sottolineare parole o frasi per nessun'altra ragione e di non scrivere intere parole o frasi in lettere maiuscole.

4. – Per i numeri decimali debbono essere adoperate virgole e mai punti, così nel testo come nelle tabelle.

5. – Per le unità di misura si farà sempre uso degli appositi simboli. Per es.:

m	= metro	γ	= milionesimo di grammo	cc	= centimetro cubico
dm	= decimetro	°/₀	= per cento	h	= ora
cm	= centimetro	N	= normale	min	= minuto primo
mm	= millimetro	pH	= pH, Ph	sec	= minuto secondo
μ	= micron	cm^2	= centimetro quadrato	σ	= millesimo di secondo
mμ	= micromicron	mm^2	= millimetro quadrato	°/₀₀	= per mille
m^2	= metro quadrato	'	= minuto d'arco	0.N	= decimo normale
mol	= grammo molecola	"	= secondo d'arco	g–eq	= grammo equivalente
milmol	= grammo molecola 1000	l	= litro		

6. – Le formule chimiche debbono essere scritte con indici in basso. Es.: CO_2.

7. – Le chiamate nel testo di eventuali note messe a pie' di pagina debbono essere indicate per mezzo di asterischi.

8. – I grafici debbono essere tracciati con inchiostro di Cina su cartoncino bianco levigato, ma non lucido.

9. – Le tabelle debbono essere scritte su fogli distinti da quelli del testo; separati da questo ultimo debbono essere anche le fotografie, i disegni e le relative didascalie.

10. – Ogni lavoro deve essere sempre accompagnato da un riassunto (in forma impersonale) del suo contenuto essenziale (scopo del lavoro, risultati ottenuti). Detto riassunto sarà pubblicato anche in lingua inglese.

11. – L'elenco bibliografico, compilato secondo l'ordine alfabetico dei cognomi degli autori citati e munito dei numeri progressivi di riferimento a quest'ultimi, deve trovarsi alla fine del lavoro.
I numeri di riferimento bibliografico, nel testo, debbono essere scritti tra parentesi, al livello del testo stesso.
I dati relativi a ogni citazione bibliografica saranno indicati nell'ordine seguente:
a) cognome (i) dell'autore e iniziale (i) del suo nome (o dei suoi nomi): da sottolineare due volte; *b*) titolo del lavoro citato; *c*) titolo del periodico in cui il lavoro è inserito: da sottolineare una volta sola; *d*) luogo di stampa del periodico; *e*) data di pubblicazione (anno o mese) del periodico; *f*) numero dell'annata o del volume, del tomo o del fascicolo del periodico; *g*) numero delle pagine (prima e ultima) del lavoro citato; *h*) numero delle figure o tavole (nel testo o fuori testo); *i*) materiale bibliografico elencato alla fine del lavoro, ove questo materiale presenti uno speciale interesse per il lettore; *j*) nelle citazioni bibliografiche di opere non periodiche, intercalare, tra il luogo e la data di pubblicazione, il nome dell'editore o dell'impresa editoriale e far seguire il numero del volume o tomo cui ci si riferisce, nonchè quello delle pagine, delle figure, ecc.